

N° d'enregistrement  
au C.N.R.S.

THESE DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Edmond SACQUET

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

---

Sujet de la Thèse : FLORE MICROBIENNE DU TRACTUS DIGESTIF et NUTRITION  
CHEZ RATTUS NORVEGICUS .

soutenue le 17 décembre 1971

devant la Commission d'Examen

MM. M. PASCAUD..... Président  
G. BUTTIN ..... Examineurs  
G. FAUCONNEAU  
P. RAIBAUD



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41556018\\_0039](https://archive.org/details/IA41556018_0039)

N° d'enregistrement  
au C.N.R.S.

THESE DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Edmond SACQUET

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

---

Sujet de la Thèse : FLORE MICROBIENNE DU TRACTUS DIGESTIF et NUTRITION  
CHEZ RATTUS NORVEGICUS .

soutenue le 17 décembre 1971

devant la Commission d'Examen

MM. M. PASCAUD..... Président  
G. BUTTIN ..... Examineurs  
G. FAUCONNEAU  
P. RAIBAUD







Lorsqu'il devint évident pour moi que les connaissances en Nutrition avaient beaucoup changé depuis que j'avais quitté les bancs de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort, Monsieur le Professeur PASCAUD m'accepta comme élève. Ce que je sais dans l'esprit cellulaire de la nutrition je le tiens de lui. En outre, Monsieur le Professeur PASCAUD a bien voulu orienter la rédaction de cette thèse, nous prodiguer de bienveillantes critiques et présider le Jury. Qu'il en soit très vivement remercié.

Monsieur le Professeur BUTTIN, malgré de nombreuses occupations a bien voulu faire partie du Jury de cette thèse. Je suis très sensible à l'honneur qu'il me fait et le prie de croire à ma reconnaissance.

Monsieur le Directeur FAUCONNEAU a toujours milité activement en faveur des études sur la Nutrition des Animaux sans Germes et a bien voulu accepter la lourde tâche d'être le rapporteur de cette thèse. Je lui demande de trouver ici l'expression de mes vifs remerciements.

P. RAIBAUD, Directeur du Laboratoire d'Ecologie Microbienne du C.N.R.Z. est mon compagnon dans cette voie difficile qu'ensemble nous parcourons. Sans sa contribution dans les travaux de bactériologie, mais surtout sans son courage, la joie inaltérable qu'il met dans tout ce qu'il fait, et son opiniâtreté dans l'effort, cette thèse n'aurait jamais vu le jour. Qu'il soit chaleureusement remercié de l'aide qu'à tout moment il m'apporte et de l'amitié qu'il me témoigne.





C'est par hasard, en lisant la littérature, qu'en 1958, quelques mois après être entré au C.N.R.S., j'ai découvert qu'il existait des animaux sans germes. Cette découverte fut pour moi un émerveillement; et de même la lecture des travaux hardis et patients des chercheurs qui, de Pasteur aux auteurs modernes, discernèrent le possible, inventèrent les techniques, se heurtèrent en des polémiques passionnées et rendirent possible le présent. C'est un pieux devoir que d'honorer la mémoire des Anciens. Je leur rends humblement mon hommage.

Ma pensée va ensuite à l'équipe du LOBUND, le Laboratoire de Bactériologie de l'Université de Notre-Dame, des années 1959-1960. J.A. REYNIERS, H. GORDON, B. WOSTMANN, J. PLEASANTS m'initierent aux techniques de la Vie sans Germes et m'en firent comprendre la philosophie. C'est grâce à leur aide qu'il fut techniquement possible de créer en 1960 un Service des Animaux sans Germes, et c'est grâce à la compréhension généreuse de Messieurs les Directeurs du C.N.R.S. qu'il lui fut donné de vivre et de croître.

Le développement des techniques n'aurait été que pure vanité si très vite l'esprit de la recherche ne s'était mis à souffler et si très tôt nombre de chercheurs, de France et d'Europe, et plusieurs Directeurs de Recherche ne s'étaient intéressés à l'étude de la Vie sans Germes. Parmi ces derniers une mention particulière doit être faite à Monsieur A. FRANCOIS et Monsieur G. MOCQUOT, Chefs de Département à l'Institut National de la Recherche Agronomique, qui furent tout de suite convaincus de l'intérêt de ce genre de travaux et à Monsieur LEVI, Directeur du C.N.R.S. pour la Biologie, qui partagea leur opinion et permit à cette entreprise de continuer, malgré les difficultés de la conjoncture.

Divers chercheurs et ingénieurs ont contribué par leur pensée ou par leurs travaux à l'édification de cette thèse. Qu'il me soit permis de citer par ordre alphabétique pour ne pas distinguer parmi eux : C.Bohuon, E.Combe, A.Comoy, Y. Demarne, A.Desplaces, R.Ducluzeau, H. Eyssen, E. Evrard, P.Flanzy, H.Garnier, J.L. Guénet, P.Hoet, M.J. Laroche, J.C.Meslin, P.Raibaud, D.Zagury.

C.Mathis et M.Lachkar, qui partagent ma vie journalière au laboratoire ont assuré une large part du travail technique et il n'y aurait pas d'animaux sans germes sans le dévouement inlassable de tout le personnel du Service.





Ma femme enfin a bien voulu assurer la dactylographie de cette thèse, tâche particulièrement ingrate, et d'autant plus méritoire.

C'est dire que les recherches que je rapporte dans cette thèse ne sont en aucune façon le fruit de mon seul travail. C'est une oeuvre collective.

A tous, je tiens à exprimer ma profonde gratitude.





## I N T R O D U C T I O N

-:-:-:-:-

### 1 - Les animaux supérieurs sont-ils capables de vivre en l'absence de la flore microbienne de leurs cavités digestives ?

Commentant une expérience de DUCLAUX, qui avait tenté de cultiver des petits pois dans un milieu privé de germes, PASTEUR (140) prononce en 1885, à l'Académie des Sciences de Paris le discours suivant :

"Souvent, dans nos causeries du laboratoire, depuis bien des années, j'ai parlé, aux jeunes savants qui m'entouraient, de l'intérêt qu'il y aurait à nourrir un jeune animal (lapin, cobaye, chien, poulet), dès sa naissance, avec des matières nutritives pures. Par cette dernière expression, j'entends désigner des produits alimentaires qu'on priverait artificiellement et complètement des microbes communs.

"Sans vouloir rien affirmer, je ne cache pas que j'entreprendrais cette étude, si j'en avais le temps, avec la pensée préconçue que la vie, dans ces conditions, deviendrait impossible.

" Si ces genres de travaux se simplifiaient par leur développement même, on pourrait peut-être tenter l'étude de la digestion par l'addition systématique, aux matières nutritives pures dont je parle, de tel ou tel microbe simple ou de microbes divers associés bien déterminés.

" L'oeuf de poule se prêterait sans difficulté sérieuse à cette nature d'expériences. Privé extérieurement au préalable de toute poussière vivante au moment où le petit poulet va sortir, mis aussitôt après dans un espace sans germes quelconques de microbes, espace où se renouvellerait un air pur, on fournirait facilement du dehors au jeune poulet des aliments purs (eau, lait, grains).

" Que le résultat soit positif et confirme la vue préconçue que je mets en avant ou qu'il soit négatif et même en sens inverse, c'est à dire, que la vie soit plus facile et plus active, il y aurait un grand intérêt à tenter l'expérience".

Il est clair, que, sans écarter complètement la possibilité qu' " en l'absence des microbes communs", la vie puisse être plus facile, c'est surtout le rôle utile, indispensable, que pourraient jouer ces microbes dans



la digestion et la nutrition de l'hôte qui préoccupe ici PASTEUR. Les bactéries sont alors connues comme de puissants agents de fermentation et il apparaît douteux que les organismes supérieurs soient capables de digérer sans leur concours.

De nos jours, de nombreuses espèces animales sont élevées en l'absence complète de germes : poule (156), caille (154), dindon (127), rat (85) (155), souris (142), cobaye (187), lapin (142), porc (117), petits ruminants (178), chat (152), chien (81), singe (206).

Nous savons, par conséquent, que les animaux supérieurs sont capables de vivre en l'absence complète de germes, à condition que leur aliments contiennent, en quantité suffisante et dans des proportions convenables, la totalité des principes nutritifs dont ils ont besoin. Il ne semble pas que ces sujets aient besoin de nutriments qui soient différents de ceux qui sont nécessaires aux animaux qui possèdent une flore microbienne dans leurs cavités digestives, c'est à dire de nutriments qui seraient le résultat de synthèses microbiennes. Certaines espèces (rats et souris) sont élevées dans cet état amicrobien depuis un si grand nombre de générations qu'il est exclu que des substances inconnues essentielles à la vie aient pu persister dans leurs tissus à l'état de réserve. PLEASANTS et coll. (143) viennent de réussir l'élevage des souris C 3 H en l'absence complète de germes pendant cinq générations, au moyen d'un régime entièrement synthétique : ainsi, pour la première fois, un mammifère est maintenu dans des conditions d'alimentation rigoureusement définies.

## 2 - Quelle influence exerce sur l'hôte la flore microbienne qui lui est associée?

Il n'est donc plus question, de nos jours, de savoir si les animaux supérieurs sont capables de vivre en l'absence des "microbes communs", mais comment est la vie en l'absence de microbes ? "Est-elle plus facile ou au contraire plus difficile....? ". En quoi la nutrition d'un organisme privé de tout microbe diffère-t-elle de celle d'un organisme qui est associé depuis toujours à une multitude de microorganismes ? Comment ces microorganismes modifient-ils la nutrition de l'hôte ?

Une telle étude est aujourd'hui possible parce que, comme l'avait prévu Pasteur, "ces genres de travaux se simplifient par leur développement même ", parce que les techniques, qui servent à maintenir les animaux à l'abri du contact avec les microbes et à leur fournir des aliments stériles, sont devenues d'une relative simplicité (195). En raison du développement de ces travaux, il devient nécessaire de former des néologismes pour désigner les animaux selon qu'ils sont privés des "microbes communs" ou au contraire associés à des microflore plus ou moins complexes. Nous parlons d'animaux "axéniques" pour caractériser l'absence d'éléments vivants étrangers à l'espèce animale considérée. "L'addition de tel ou tel microbe simple ou de microbes divers associés,





bien déterminés " permet d'obtenir des sujets qu'avec RAIBAUD et coll. (148), nous appelons sujets "gnotoxéniques". Nous désignons au contraire, par les termes d'animaux "holoxéniques" ceux qui portent, dans leurs cavités naturelles, la totalité de la flore microbienne "originelle", et par les termes d'animaux "hétéroxéniques" ceux qui n'ont pas hérité de cette microflore "traditionnelle", et chez lesquels se développe une microflore différente de celle des animaux holoxéniques. Enfin, comme les auteurs de langue anglaise appellent indifféremment "conventional" les sujets "holo" et "hétéroxéniques", nous désignons d'une manière très générale par animal "polyxénique" celui qui héberge plusieurs espèces microbiennes, sans préjuger s'il s'agit d'animal "holoxénique" ou d'animal "hétéroxénique".

La méthode, qu'il semble logique d'employer dans l'étude du rôle qu'exerce la flore microbienne du tractus digestif sur la nutrition de l'hôte, consiste :

1 - à procéder à une analyse des caractères nutritionnels de l'organisme axénique et de l'organisme holoxénique, afin d'apprécier quels sont ceux de ces caractères qui sont semblables dans les deux groupes, et quels sont ceux qui sont différents.

2 - à associer à l'organisme axénique un ou plusieurs microorganismes de façon à connaître quels sont ceux qui agissent sur un caractère donné de la nutrition de l'hôte et à établir comment ces microorganismes exercent leurs actions.

3 - à replacer les données ainsi acquises dans le contexte propre à l'organisme holoxénique, c'est à dire à apprécier si les phénomènes, qui ont été étudiés dans des conditions plus simples, se produisent vraiment, se produisent de la même manière, ou d'une manière modifiée chez l'animal holoxénique.

En fait, cette méthode est encore dans l'enfance. Un nombre très limité de chercheurs s'attache à déterminer les caractères essentiels de l'animal axénique. Au contraire, il apparaît à de nombreux spéculateurs que l'animal axénique est un "animal en culture pure" et par conséquent, le réactif expérimental idéal, voire indispensable à toutes sortes d'expérimentations. De même que le bactériologiste isole le germe qu'il étudie en culture pure de façon à en étudier les propriétés biochimiques ou antigéniques, de même le biologiste utilise l'animal axénique parce que la réponse qu'il donne n'est pas





altérée par l'action intercurrente de microorganismes. Progressivement se développe, cependant, l'idée que ces animaux en culture pure diffèrent profondément des animaux qui sont habituellement utilisés au laboratoire, que l'animal "axénique" n'est pas un animal "holoxénique" auquel il manque simplement la présence des microbes, mais qu'il lui manque aussi les effets multiples que les microorganismes font subir à leur hôte. Très progressivement aussi se développe l'idée que l'hôte est capable d'exercer certaines actions sur la flore microbienne de ses cavités digestives et aussi que les bactéries intestinales agissent les unes sur les autres. En sorte que le biologiste qui veut étudier les rapports qui existent entre la flore microbienne de l'hôte et sa nutrition, se trouve en présence d'un système d'interactions multiples qui s'exercent entre l'hôte et les bactéries.

### 3 - Plan de cette thèse

Le plan de cette thèse reflète ces diverses tendances. Nous nous proposons de montrer comment la comparaison de sujets d'expérience axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques permet de mieux connaître l'influence qu'exerce la microflore du tractus digestif sur la nutrition de l'hôte.

Le premier chapitre présente les aspects bactériologiques de cette méthode. Les caractères principaux de la flore microbienne des rats holoxéniques sont analysés, ainsi que les variations qui se produisent sous l'action d'une modification chirurgicale du tractus digestif de cet animal dont les conséquences pour la nutrition de l'hôte sont étudiées au chapitre III. Dans ce chapitre, sont aussi exposées les observations faites lors de l'ensemencement des rats axéniques par des bactéries isolées du tractus digestif du rat holoxénique.

Le deuxième chapitre reflète cette préoccupation que l'organisme axénique est profondément différent de l'organisme holoxénique et que l'étude de l'action de la flore microbienne sur la nutrition de l'hôte ne peut être entreprise sans une connaissance approfondie de la physiologie de l'animal axénique.

Le troisième chapitre est une tentative pour illustrer la méthode que nous avons décrite. Il est consacré à une étude de l'action de la flore microbienne du tractus digestif sur la digestibilité apparente des lipides alimentaires, dans des conditions normales et pathologiques. Il traite, en particulier, des modifications que la flore microbienne fait subir aux sels biliaires qui jouent un rôle important dans la digestion des matières grasses. Nous nous proposons de montrer comment cette méthode permet d'acquérir des connaissances qui ne pourraient être obtenues d'une manière différente.



## C H A P I T R E I

M I C R O F L O R E      D U      T U B E      D I G E S T I F      D U      R A T

# INTRODUCTION

— \* — \* — \* — \* — \*

Intérêt de l'étude de la flore microbienne du tractus digestif du rat holoxé-  
nique

L'étude de l'action de la flore microbienne du tractus digestif sur la physiologie de l'hôte est inséparable de l'étude de cette flore microbienne elle-même. Cette microflore est la source qui fournit les bactéries avec lesquelles nous essayons de reproduire les caractères qui différencient l'organisme holoxénique de l'organisme axénique. La façon dont les microorganismes qui la composent, sont répartis aux divers niveaux du tractus gastro-intestinal conditionne leur action sur l'hôte, et la connaissance de cette répartition est indispensable à l'interprétation de nombreux résultats expérimentaux. Certaines variations de la flore peuvent aboutir à des états pathologiques : une variation de ce genre est étudiée au cours de cette thèse. Il s'agit de la malabsorption des lipides alimentaires qui se produit dans le syndrome de l'anse aveugle. On entend par ce terme un ensemble de troubles qui se produisent chez l'homme quand, à la suite de déformation de la paroi intestinale, il se produit une stase plus ou moins étendue. (158, 185). Il est possible de reproduire cet état chez l'animal en formant au niveau du jéjunum un cul de sac que le péristaltisme tend à remplir. (3, 24, 47 à 53, 58, 100, 114, 139, 181, 193, 197, 198).

La flore microbienne de l'intestin grêle du rat holoxénique est d'un intérêt particulier, parce qu'à ce niveau se produisent la plupart des phénomènes de digestion et d'absorption. Elle a été peu étudiée (112, 144, 177, 184), en raison des difficultés techniques que comporte une telle étude et, il en est de même des modifications qu'elle subit sous l'influence d'une anse aveugle (15, 51, 58, 100, 112, 113, 131, 136, 139, 162, 198). L'ensemble des auteurs s'accorde à reconnaître une intense prolifération bactérienne dans l'anse aveugle, mais les analyses bactériologiques sont peu détaillées. Seules,





les plus récentes (15, 51, 100, 113, 136) font une part aux anaérobies stricts.

Pour PANISH (139), il n'existe pas de modification hors de l'anse aveugle. BISHOP (15), observe, chez quelques sujets, une augmentation de la microflore en amont de l'anse, et affirme que l'intestin grêle est stérile en aval. WATSON et WITTS (198), HOET et EYSEN (100), KENT et coll., (113), signalent des modifications, au niveau de l'intestin grêle, dans les régions qui sont en aval de l'anse aveugle. NYGAARD (136) signale, outre des modifications importantes dans ces mêmes régions, une légère augmentation des coliformes dans la partie de l'intestin grêle située en amont de l'anse.

#### Ensemencement du tractus digestif du sujet axénique par des bactéries.

L'ensemencement du tractus digestif du sujet axénique par "tel ou tel microbe simple ou par des microbes divers associés bien déterminés" est le deuxième temps de la méthode proposée pour étudier le rôle des microbes dans la nutrition de l'hôte.

Quelques expérimentateurs ont observé que le développement des bactéries anaérobies stricts ensemencées dans le tractus digestif du sujet axénique n'allait pas de soi et que, dans nombre de circonstances, ces bactéries ne se développaient pas (68) (86). Les facteurs, dont dépend l'implantation des souches ont été peu étudiés. L'un d'eux paraît d'une importance particulière. WOSTMANN et BRUCKNER-KARDOSS observent que les potentiels d'oxydo-réduction du caecum des rats axéniques ont des valeurs très nettement positives (209) et diffèrent de ceux du caecum des rats holoxéniques de + 250 à 300 mV.

Quand des mélanges de bactéries sont ensemencés simultanément, ces bactéries ne se développent pas toujours de la même manière que lorsqu'elles sont ensemencées seules. Ces bactéries agissent les unes sur les autres (54). La connaissance des mécanismes, par lesquels les bactéries "interagissent" conditionne l'utilisation expérimentale des sujets gnotoxéniques.

#### Plan de cet exposé.

Cet exposé comprend deux parties :

- la première décrit la microflore comparée de l'estomac, de l'intestin grêle et du caecum du rat holoxénique ainsi que ses modifications à la suite de la formation d'une anse aveugle. Pour la clarté de l'exposé, nous exposons successivement les résultats en fonction de trois points de vue différents. Dans un premier chapitre nous décrivons les variations quantitatives que subit, de l'estomac au caecum, chaque groupe bactérien dénombré dans les deux situations écologiques que nous étudions. Dans le deuxième chapitre, nous considé-









dans neuf fois leur poids d'eau stérile. Les résultats des numérations sont exprimés en nombre de bactéries par gramme d'organe frais.

Les techniques d'analyse microbiologique consistent à ensemencer des dilutions décimales de l'échantillon sur une gamme de milieux sélectifs, grâce auxquels il est possible de distinguer, sur des critères morphologiques et biochimiques, un certain nombre de groupes bactériens. Ces dilutions sont ensemencées, soit directement, soit après contact avec l'acide propionique à pH 4, en aérobiose et en anaérobiose.

Ces techniques, dont nous ne faisons que rappeler le principe, ont été décrites en détail par RAIBAUD et coll. (146)

#### Techniques d'ensemencement des rats axéniques par les cultures microbiennes.

Différentes techniques ont été utilisées pour ensemencer les rats axéniques par les bactéries ou la levure.

(1) - Technique dite "des bocaux". Cette technique est empruntée à GUSTAFSSON (88). Elle consiste à placer à l'intérieur d'un isolateur, un rat axénique dans un bocal stérile muni d'un couvercle de laine de verre qui sert de filtre à air. Ce bocal est retiré de l'isolateur. La culture est injectée au moyen d'une seringue, dont l'aiguille perce le filtre à air, à l'intérieur du bocal, en aspergeant le museau du rat qui immédiatement réagit en se léchant et ingère une fraction d'inoculum.

(2) - L'administration à la sonde. La culture est introduite d'une part dans l'estomac et d'autre part per rectum. Le sujet reçoit ainsi plusieurs ml d'une culture, c'est à dire des quantités de l'ordre du milliard de cellules vivantes.

Dans le but de rendre plus claire la présentation des résultats et en particulier celle des tableaux, les souches bactériennes utilisées pour ensemencer le tractus digestif, sont représentées par des numéros dont la nomenclature est indiquée dans le tableau I.



TABLEAU I - Désignation des souches de bactéries et d'une souche de levure utilisées pour ensemen- cer le tractus digestif des rats axéniques.

| Souches microbiennes                 | Numéros  |
|--------------------------------------|----------|
| Veillonella                          | 1        |
| Streptocoques anaérobies stricts     | 2 à 9    |
| Streptocoques anaérobies facultatifs | 10 à 13  |
| Sphaerophorus                        | 14       |
| Butyribacterium                      | 15       |
| Catenabacterium                      | 16 à 20  |
| Acuformis                            | 11       |
| Ramibacterium                        | 22 et 23 |
| Fusiformis                           | 24       |
| Endosporus                           | 25       |
| Clostridium bifermentans             | 26       |
| Clostridium anaérobie facultatif     | 27       |
| Plectridium                          | 28 et 29 |
| Welchia perfringens                  | 30       |
| Levure (Torulopsis)                  | 31       |





ETUDE COMPAREE DE LA MICROFLORE DE L'ESTOMAC, DE L'INTESTIN ET DU CAECUM DU  
RAT HOLOXENIQUE ET DE SES MODIFICATIONS A LA SUITE DE LA FORMATION D'UNE  
ANSE AVEUGLE JEJUNALE

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — :

I - Répartition des microorganismes dans l'estomac, l'intestin grêle et le caecum, chez les rats holoxéniques opérés ou non.

1 - Nombre total de bactéries cultivables.

Ces résultats sont représentés par les lignes N des figures 1 et 2. L'estomac du rat holoxénique renferme une population bactérienne importante. Cette population diminue considérablement au niveau du premier segment de l'intestin grêle et croît à nouveau dans le deuxième, le troisième et le quatrième segment. Elle atteint au niveau de celui-ci une valeur semblable à celle de l'estomac, pour devenir ensuite dans le caecum dix fois plus nombreuse. Les variations individuelles sont considérables et les valeurs extrêmes peuvent différer d'un facteur 1 000. Ces variations importantes rendent impossibles des évaluations statistiques précises et seules les modifications de la microflore qui revêtent une grande amplitude peuvent être mises en évidence.

C'est le cas lors de la formation d'une anse aveugle jéjunale (ligne N de la figure 2). Chez ces sujets, une très importante population microbienne s'établit au niveau de ce cul de sac, population dont le nombre est du même ordre de grandeur que celui du caecum. Simultanément, la population bactérienne cultivable augmente à tous les niveaux de l'intestin grêle et même du caecum, et ne demeure inchangée qu'au niveau de l'estomac. Au niveau du premier et du deuxième segment, elle augmente plus de cent fois, au niveau du troisième et du quatrième segment, environ vingt fois et au niveau du caecum, dix fois.

2 - Levures

Les levures dénombrées (ligne Lv, des figures 1 et 2) sont propres au tube digestif et non pas originaires de l'aliment. Elles sont microaérophiles et appartiennent au genre Torulopsis (168, 169).

Ces levures sont nombreuses dans l'estomac où elles constituent une partie importante de la flore microbienne : 3 millions de levures par gramme d'organe, contre 50 millions de bactéries. Cette importance est encore plus grande si on considère que leur volume cellulaire est très supérieur à celui des bactéries (10 à 30 fois). Elles sont présentes chez tous



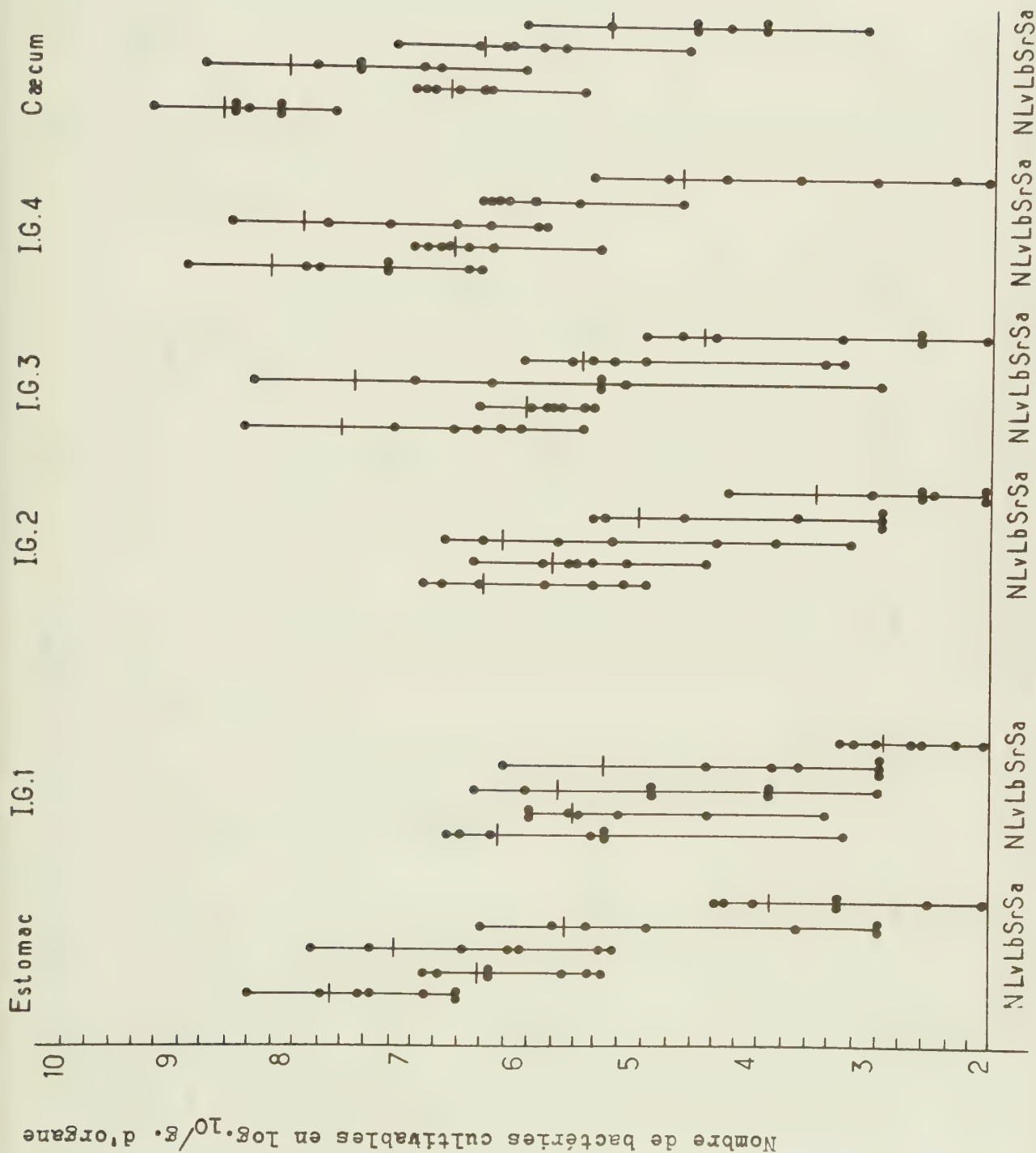


Fig. 1 - Nombre de bactéries cultivables à différents niveaux du tube digestif des rats holoxéniques en log<sub>10</sub>/g. d'organe. Les points représentent les valeurs individuelles et les traits horizontaux, les moyennes arithmétiques. I.G.1, 2, 3, 4 : lère, 2ème, 3ème et 4ème partie de l'intestin grêle. N = nombre total de bactéries. Lv = levures, Lb = lactobacilles, Sr = Streptococcus faecalis, Sa = staphylocoques et microcoques





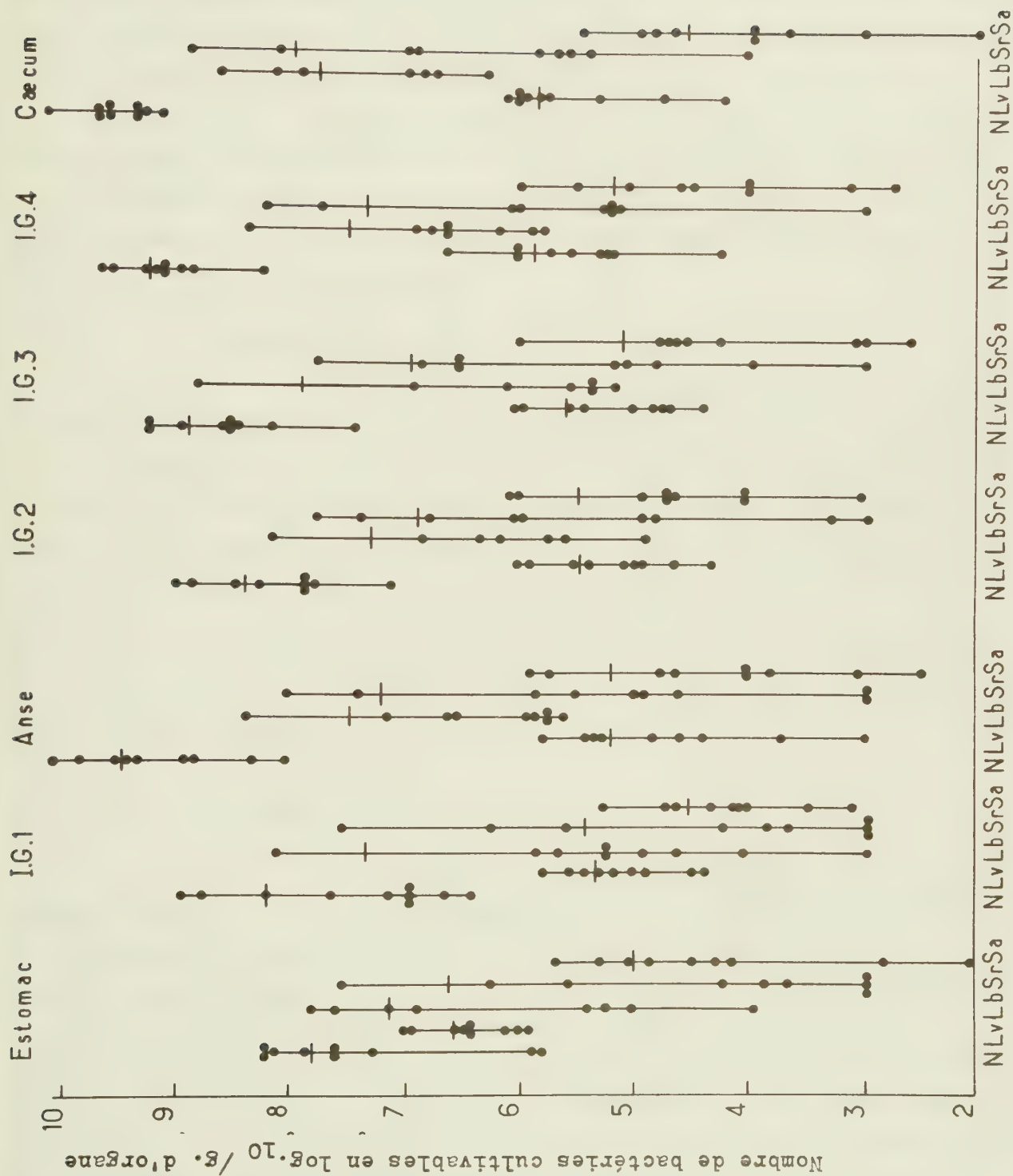


**Fig. 2** - Nombre de bactéries cultivables à différents niveaux du tube digestif des rats holoxéniques, porteurs d'une anse aveugle. La signification des symboles est la même que pour la figure 1.



les rats holoxéniques étudiés, dans tous les organes ou segments. D'un individu à l'autre, leur nombre est moins variable, au niveau d'un même segment que celui des bactéries. Comme pour l'ensemble de la microflore, leur nombre diminue dans le premier segment de l'intestin grêle, pour remonter dans les segments suivants, mais ces variations selon le lieu sont moins importantes que pour l'ensemble des bactéries cultivables.

Chez les rats porteurs d'une anse aveugle, il n'y a aucune augmentation du nombre des levures aussi bien dans l'anse aveugle que dans les divers segments de l'intestin grêle ou le caecum, et peut-être même une diminution qui contraste nettement avec l'augmentation du nombre de bactéries cultivables chez ces rats.

### 3 - Escherichia coli

La répartition d'Escherichia coli de l'estomac au caecum est représentée dans le tableau II. Chez les rats holoxéniques, c'est une des populations les plus variables d'un sujet à l'autre. Seuls, deux rats sur sept en contiennent dans tous les segments étudiés. Chez quatre rats sur sept ils sont absents de l'estomac et des trois premiers segments de l'intestin grêle. Ils sont absents aussi dans le quatrième segment chez deux de ces quatre rats. Par contre, leur présence est constante au niveau du caecum et les variations individuelles y sont moins élevées que dans les autres organes. La formation d'une anse aveugle détermine une augmentation des coliformes de l'estomac au caecum.

### 4 - Actinobacillus

La distribution des Actinobacillus, chez les rats non opérés a quelques caractères communs avec celle des levures. Ils sont présents de l'estomac au caecum. Ils ne tendent pas, en moyenne, à être plus nombreux dans le caecum que dans l'estomac : le log. 10 de la moyenne est 6,2, dans l'estomac, 4,3 dans le premier segment de l'intestin grêle, 5,4 dans le second, 5,3 dans le troisième, 5,9 dans le quatrième et 6,2 dans le caecum. Ils n'ont pas été retrouvés chez un sujet dans l'estomac, chez deux sujets dans le premier segment de l'intestin grêle, et chez un sujet dans le deuxième segment de l'intestin grêle. La formation d'une anse aveugle ne fait pas varier leur nombre. Ils constituent une des populations les plus stables.

### 5 - Lactobacillus

Les lactobacilles que nous avons dénombrés sont l'un des groupes dominants de la flore bactérienne de l'estomac, de l'intestin grêle-





TABLEAU II - Nombre de cellules vivantes d'Escherichia, de Clostridium et d'Endosporus dans diverses parties du tractus digestif des rats holoxéniques porteurs ou non d'une anse aveugle. (log.<sub>10</sub> de la valeur moyenne et des valeurs extrêmes par g d'organes).

| Espèce ou genre bactérien | Présence ou absence d'anse (1) | Estomac                                  | I .G. 1 (2)                 | Anse                     | I.G. 2 (2)                  | I.G. 3 (2)                  | I.G. 4 (2)                 | Caecum                   |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| <u>Escherichia coli</u>   | -                              | <2 (4) <sup>3</sup><br><u>2,9</u><br>3,3 | <2 (4)<br><u>4,3</u><br>5,2 |                          | <2 (5)<br><u>3,6</u><br>4,4 | <2 (4)<br><u>3,9</u><br>4,4 | 2 (2)<br><u>5,3</u><br>6,0 | 4,2<br><u>5,7</u><br>6,3 |
|                           | +                              | <2 (3)<br><u>6,4</u><br>7,3              | 3,8<br><u>7,2</u><br>7,8    | 6,6<br><u>7,8</u><br>8,4 | 4,8<br><u>7,7</u><br>8,5    | 6,2<br><u>8,5</u><br>9,4    | 6,2<br><u>8,2</u><br>8,9   | 7,0<br><u>8,7</u><br>9,3 |
| <u>Clostridium</u>        | -                              | <3                                       | <3                          |                          | <3                          | <3                          | <3                         | <3 à 6                   |
|                           | +                              | <3 (5)<br><u>6,6</u><br>7,5              | <3 (1)<br><u>6,6</u><br>7,3 | 6,0<br><u>7,3</u><br>7,7 | 4,0<br><u>7,3</u><br>7,6    | 5,0<br><u>6,9</u><br>7,5    | 5,5<br><u>7,6</u><br>8,2   | 7,5<br><u>8,0</u><br>8,3 |
| <u>Endosporus</u>         | -                              | <3                                       | <3                          |                          | <3                          | <3                          | <3                         | 5 à 6                    |
|                           | +                              | 3,8<br><u>5,9</u><br>6,7                 | 5,0<br><u>6,0</u><br>6,7    | 7,0<br><u>7,8</u><br>8,3 | 4,9<br><u>7,0</u><br>8,0    | 5,0<br><u>7,1</u><br>8,2    | 5,0<br><u>7,1</u><br>7,8   | 7,7<br><u>8,1</u><br>8,7 |

(1) : - rat non opéré

+ rat porteur d'une anse

(2) : I.G.1, I.G.2, I.G.3, I.G.4 = 1er, 2e, 3e et 4e segment de l'intestin grêle. Chez les rats porteurs d'une anse, I.G.1 désigne le segment placé en avant de l'anse aveugle

(3) : ( ) = nombre de sujets



le et du caecum. C'est à dire que leur répartition (lignes Lb des figures 1 et 2) est semblable à celle du nombre total des bactéries cultivables. La formation d'une anse aveugle n'en modifie pas sensiblement le nombre, à l'exception d'un sujet chez lequel ils prolifèrent du premier segment de l'intestin grêle au caecum; à cette exception près, les lactobacilles ne participent guère à l'augmentation du nombre total des bactéries cultivables dans l'intestin grêle, l'anse et le caecum de ces rats opérés, et cessent d'être dans l'intestin grêle, la population dominante.

#### 6 - Streptocoques anaérobies facultatifs

Ces cocci sont présents chez tous les rats holoxéniques non opérés dans tous les organes et segments étudiés. Ils constituent dans l'estomac une des populations les plus importantes. Le log. 10 de la moyenne est égal à 7,2 dans l'estomac, 4,7 dans le premier segment de l'intestin grêle, 5,5 dans le second, 6,3 dans le troisième, 6,9 dans le quatrième et 7,7 dans le caecum. Les streptocoques du groupe Str. faecalis sont moins nombreux que ceux des autres groupes dans les parties antérieures du tube digestif et leur distribution dans les divers segments intestinaux est très irrégulière (ligne Sr fig. 1).

Chez les rats porteurs d'une anse aveugle, les streptocoques anaérobies facultatifs prolifèrent et leur nombre varie comme l'ensemble des bactéries cultivables entre  $10^5$  et  $10^9$  par g selon les sujets et les segments. La distribution des S. faecalis demeure très irrégulière (ligne Sr fig. 2)

#### 7 - Microcoques et Staphylocoques

Staphylococcus pyogenes est toujours en nombre très faible (moins de 100 par gramme d'organe), chez les rats holoxéniques étudiés. Au contraire, les microcoques et les staphylocoques autres que Staph. pyogenes sont présents à tous les niveaux du tractus gastro-intestinal, chez tous les sujets holoxéniques non opérés sauf chez l'un d'eux où ils ne se trouvent qu'au niveau du caecum. Les microcoques sont en général plus abondants que les staphylocoques. L'ensemble varie en moyenne de dix mille par gramme au niveau de l'estomac à cent mille au niveau du caecum, avec des valeurs intermédiaires au niveau de l'intestin grêle (ligne Sa fig. 1).

Chez les sujets porteurs d'une anse aveugle, cette population tend à augmenter d'une manière modérée dans l'estomac, l'anse aveugle et les deux premiers segments de l'intestin grêle (ligne Sa fig. 2).





## 8 - Streptocoques anaérobies stricts

Ces streptocoques ne peuvent être mis en évidence que lorsqu'ils sont en nombre important. Cela est particulièrement vrai de ceux qui sont sensibles à l'action de l'acide propionique.

Chez les rats holoxéniques non opérés, ces espèces ne sont mises en évidence que dans le caecum, chez cinq sujets sur sept et en quantités de l'ordre de dix à cent millions par gramme de contenu caecal. Mais par contre, chez les sujets porteurs d'une anse, une très importante population de streptocoques anaérobies stricts est observée chez sept sujets sur neuf, à des niveaux très élevés, dans l'anse aveugle, tous les segments de l'intestin grêle et aussi dans le caecum (Tableau III).

## 9 - Anaérobies stricts sporulés

Chez les rats holoxéniques, les Clostridium (Tableau II) sont habituellement très peu nombreux dans l'estomac et les parties antérieures de l'intestin grêle, où l'on trouve, en moyenne, moins de mille par gramme d'organe : ils peuvent atteindre cette valeur dans le quatrième segment de l'intestin grêle. Ils demeurent peu abondants au niveau du caecum (dix mille en moyenne). Dans le cas d'une anse aveugle, leur nombre augmente d'une manière spectaculaire à tous les niveaux de l'intestin grêle où il varie de un à dix millions par gramme, le caecum où il atteint cent millions et même aussi dans l'estomac de quelques rats.

Les Welchia ne sont dénombrés dans aucun échantillon étudié. Les Endosporus (Tableau II), sont aussi très rares dans l'estomac et l'intestin grêle du rat holoxénique non opéré. Leur nombre atteint cent mille à un million par gramme d'organe dans le caecum. La formation d'une anse aveugle détermine une augmentation de cette population tout à fait comparable à celle des Clostridium.

## 10 - Anaérobies stricts non sporulés autres que les streptocoques

Chez les rats non opérés, à l'exception des Bifidobacterium qui sont présents chez quelques sujets dans l'intestin grêle et même dans l'estomac, les anaérobies à Gram-positif non sporulés (Eubacterium, Ramibacterium, Catenabacterium) se trouvent régulièrement dans le caecum, mais ne sont pas observés, tout au moins en flore dominante, dans l'estomac et dans l'intestin grêle, y compris dans les portions terminales de celui-ci. Parmi les anaérobies stricts à Gram-négatif non sporulés, les Ristella et Veillonella peuvent être observées assez régulièrement de l'estomac au caecum; les Veillo-



TABLEAU III - Répartition de sept rats "holoxéniques" porteurs d'une anse aveugle, en fonction du nombre de streptocoques anaérobies stricts dénombrés dans les différentes parties du tractus digestif.

| Espèces                                 | log.10 du nombre par g d'organe | Estomac | I.G.1<br>(1) | Anse | I.G.2<br>(1) | I.G.3<br>(1) | I.G.4<br>(1) | Caecum |
|-----------------------------------------|---------------------------------|---------|--------------|------|--------------|--------------|--------------|--------|
|                                         |                                 |         |              |      |              |              |              |        |
| Espèces résistant à l'acide propionique | 10 à 9                          |         |              | 2    |              |              |              | 3      |
|                                         | 9 à 8                           |         |              | 3    | 1            | 1            | 5            | 4      |
|                                         | 8 à 7                           |         | 2            | 2    | 2            | 5            | 1            |        |
|                                         | 7 à 6                           | 3       | 2            |      |              | 1            | 1            |        |
|                                         | 6 à 5                           |         | 2            |      | 4            |              |              |        |
|                                         | 5 à 4                           |         | 1            |      |              |              |              |        |
| Espèces sensibles à l'acide propionique | 10 à 9                          |         |              | 4    | 1            | 1            | 2            | 4      |
|                                         | 9 à 8                           |         |              | 2    | 1            | 2            | 1            |        |
|                                         | 8 à 7                           |         | 1            |      | 1            |              |              |        |
|                                         | 7 à 6                           |         | 3            |      |              |              |              |        |

(1) - même signification que dans le tableau II





nella varient de mille à un million de cellules vivantes par gramme d'organe. Les Ristella sont moins nombreuses et ne dépassent pas le chiffre de dix mille. Les autres genres (Pasteurella, Fusiformis, Fusocillus, Sphaerophorus) ne sont observés que d'une manière tout à fait exceptionnelle en dehors du caecum.

Chez les sujets porteurs d'une anse aveugle, au contraire, il a été possible à plusieurs reprises de mettre en évidence, au niveau de l'anse aveugle elle-même, une augmentation du nombre des Bifidobacterium et des Veillonella, qui peuvent atteindre cent millions de cellules vivantes par gramme d'organe et la présence d'autres anaérobies stricts de type caecal (Catenabacterium, Ramibacterium, Eubacterium, Pasteurella).

## II - Composition comparée de la microflore de l'estomac, de l'intestin grêle, et du caecum du rat holoxénique non opéré

Le rat adulte a une microflore stomacale abondante. Les microorganismes qui dominent sont, par ordre décroissant, les lactobacilles (log. 10 de la moyenne : 7,2), les streptocoques anaérobies facultatifs qui n'appartiennent pas au groupe Str.faecalis (7,2), les levures (6,5), les Actinobacillus (6,3), les Veillonella (6,0), les streptocoques du groupe Str.faecalis (5,7), et en nombre moins important ou de manière irrégulière des Ristella (4,0), des staphylocoques et des microcoques (4,0), enfin des Escherichia (2,4).

La microflore de l'intestin grêle a une composition très semblable à celle de l'estomac. On y retrouve tous les genres microbiens qui sont présents dans l'estomac, et, à de très rares exceptions près, on n'y voit pas apparaître de genres nouveaux, absents de l'estomac. Mais il existe des différences quantitatives importantes entre les microflores de ces deux organes. Ces différences sont difficiles à saisir quand on considère les résultats d'ensemble présentés dans les figures et tableaux précédents, en raison de la très grande variabilité des populations microbiennes selon les individus. Elles deviennent beaucoup plus perceptibles quand on considère les analyses faites sur un même animal. Ainsi le tableau IV représente la répartition de certains microorganismes dans les diverses parties du tube digestif d'un rat holoxénique choisi à titre d'exemple. On peut y voir qu'au sein d'une même espèce ou d'un même genre, ce rapport n'est pas constant dans les différentes parties du tube digestif. Le nombre des différents microorganismes cultivés n'évolue donc pas d'une manière identique chez un même rat.



TABLEAU IV - Variations numériques de diverses bactéries et des levures dans les différentes parties du tube digestif d'un même rat "holoxénique", exprimées par le rapport multiplié par 1 000 entre la numération d'un microorganisme donné et le nombre de bactéries cultivables.

|                                | Estomac | I.G. 1 | I.G. 2 | I.G. 3 | I.G. 4 | Caecum |
|--------------------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Levures                        | 40      | 90     | 2 300  | 170    | 63     | 15     |
| <u>E.coli</u>                  | 0,03    | 75     | 0,7    | 0,5    | 0,2    | 1,5    |
| <u>Actinobacillus</u>          | 3       | 0,5    | 200    | 7      | 9      | 12     |
| <u>Lactobacillus</u>           | 400     | 50     | 860    | 810    | 1 000  | 100    |
| <u>Streptococcus</u> du groupe |         |        |        |        |        |        |
| <u>Str. faecalis</u>           | 1,5     | 900    | 3      | 40     | 40     | 4      |
| <u>Streptococcus</u> , autres  |         |        |        | (1)    |        |        |
| groupes anaérobies facul-      |         |        |        |        |        |        |
| tatif                          | 500     | 100    | 1 000  | -      | -      | -      |

(1) - non déterminé





La flore caecale est, par contre, tout à fait différente de la flore de l'intestin grêle. Au niveau du caecum, on retrouve, certes, les diverses bactéries qui existent au niveau de l'intestin grêle. Alors que l'ensemble des bactéries cultivables augmente sensiblement par rapport au dernier segment de l'intestin grêle (deux à trois fois en moyenne), les levures n'augmentent pas, les Lactobacillus très peu (1,4 fois), les streptocoques, les Escherichia, les Actinobacillus augmentent plusieurs fois leur nombre (3 à 6 fois), ainsi que les anaérobies stricts déjà rencontrés dans l'intestin grêle (Veillonella, 4 fois). Mais surtout, une population importante d'anaérobies stricts peut être mise en évidence en flore dominante, alors que cela est impossible au niveau de l'estomac et des divers segments de l'intestin grêle, y compris le quatrième. La présence en quantité importante de ces bactéries anaérobies strictes confère à la microflore caecale un caractère original. Ainsi la microflore dominante du caecum apparaît constituée, non seulement de lactobacilles (log. 10 de la moyenne : 8,2), de streptocoques anaérobies facultatifs du groupe Str. faecalis (6,5), d'Actinobacillus (6,2), de levures (6,8), qui sont présents dans les segments antérieurs, mais aussi des nombreux bacilles anaérobies stricts à Gram-positif et à Gram-négatif et de streptocoques anaérobies stricts en nombre variant de  $10^9$  à  $10^7$ . La microflore sous-dominante, c'est à dire les bactéries en nombre égal ou inférieur à  $10^6$  est constituée de Veillonella ( $6 \times 10^5$ ), E.coli ( $5 \times 10^5$ ), staphylocoques et microcoques ( $2 \times 10^5$ ), Ristella ( $10^4$ ) et d'un nombre variable d'anaérobies sporulés, Endosporus ( $10^5$  à  $10^6$ ), Clostridium ( $10^3$  à  $10^5$ ).

### III - Modifications de la microflore du tube digestif du rat holoxénique à la suite de la formation d'une anse aveugle.

L'augmentation de la population microbienne que détermine la formation d'une anse aveugle jéjunale n'est pas le résultat d'un accroissement en nombre de tous les genres microbiens, mais revêt un caractère sélectif. Certains microorganismes n'augmentent pas : levures, actinobacilles, ou peu : léger accroissement du nombre de lactobacilles dans l'anse aveugle. Certains augmentent dans certaines parties du tractus digestif et pas dans d'autres. Les staphylocoques et les microcoques augmentent surtout dans le premier et le deuxième segment de l'intestin grêle, mais leur nombre demeure toujours inférieur à  $10^6$ , ce qui montre que ces cocci demeurent réprimés par le reste de la flore microbienne : ces bactéries peuvent, en effet, atteindre des chiffres élevés chez le rat monoxénique (148). Les streptocoques anaérobies facultatifs du groupe Str. faecalis augmentent en nombre, chez la plupart des sujets, à tous les niveaux sauf dans le premier segment de l'intestin grêle. D'autres



groupes bactériens augmentent à tous les niveaux de l'intestin grêle et dans le caecum. C'est le cas des streptocoques anaérobies facultatifs autres que ceux du groupe Str. faecalis et des Veillonella. Les Escherichia augmentent dans tout l'intestin grêle et le caecum, mais aussi dans l'estomac, comme si les mécanismes qui, chez le rat holoxénique non opéré, s'opposent à leur prolifération avaient cédé. Enfin, et c'est peut-être le fait le plus important, apparaissent dans l'anse aveugle et au niveau de l'intestin grêle des bactéries anaérobies strictes qui normalement n'y sont pas présentes : Clostridium, Endosporus, streptocoques anaérobies stricts qui s'établissent partout, y compris dans l'estomac et qui, très souvent présents dans le caecum chez le rat non opéré, s'y trouvent accrus en nombre chez le rat porteur d'une anse aveugle. Les bacilles anaérobies stricts non sporulés se trouvent en nombre suffisamment important dans l'anse pour y être mis en évidence. Ainsi, dans l'anse aveugle et dans tous les segments de l'intestin grêle se trouve établie une flore microbienne qui est abondante et qui ressemble à celle du caecum.

#### ETUDE DU DEVELOPPEMENT DE DIVERSES SOUCHES MICROBIENNES ENSEMENCEES DANS LE TRACTUS DIGESTIF DU RAT AXENIQUE

##### I - Influence du choix de l'aliment et du mode d'administration des cultures bactériennes dans le succès des implantations

Sur 48 tentatives effectuées afin d'établir, dans le tube digestif du rat axénique, des souches de bactéries isolées du caecum de rats holoxéniques, six tentatives échouent. Il s'agit des essais d'implantation faits avec les streptocoques anaérobies stricts n°3 et n°4, les Catenabacterium n° 17, n°18, le mélange de ces deux souches de Catenabacterium et le mélange : Streptocoque anaérobie n°4, Catenabacterium n°19, Plectridium n° 29. Tous ces essais sont faits chez des sujets qui reçoivent le régime S.N. et chez lesquels la culture bactérienne est administrée par aspersion. Des échecs d'implantation sont également observés avec les souches de Streptocoque n°4, d'Acuformis n°21 administrés à la sonde à des rats qui reçoivent ce régime S.N.

Les rôles respectifs du régime alimentaire et du mode selon lequel la culture bactérienne est administrée, dans le succès de l'implantation du Streptocoque anaérobie n°3 sont décrits dans le tableau V. L'aliment D.P. est plus favorable à l'implantation que l'aliment S.N. Lorsque l'aliment D.P. est utilisé, le procédé par administration à la sonde est meilleur que le procédé par aspersion. Un contact d'une semaine, dans une même cage, entre un sujet ensemencé et cinq rats axéniques qui reçoivent le régime S.N., ne permet pas l'implantation de la souche chez ces rats axéniques, alors que, chez les sujets





qui reçoivent le régime D.P., la souche s'établit rapidement.

TABLEAU V - Implantation du Streptocoque anaérobie strict n°3. Influence de la nature de l'aliment et du mode de contamination. Nombre de sujets infectés / nombre de sujets exposés à la contamination

|                                           | Modes d'ensemencement |         |                      | Total en fonction de l'aliment |
|-------------------------------------------|-----------------------|---------|----------------------|--------------------------------|
|                                           | Sonde                 | Contact | Aspersion en "bocal" |                                |
| Aliment S.N.                              | 3/15                  | 0/5     | 0/5                  | 3/25                           |
| Aliment D.P.                              | 7/7                   | 4/4     | 2/5                  | 13/16                          |
| Total en fonction du mode d'ensemencement | 10/22                 | 4/9     | 2/10                 | 16/41                          |

Enfin le streptocoque n°3, établi dans le tractus digestif des rats qui reçoivent le régime D.P., persiste quand les rats reçoivent, par la suite, le régime S.N.

I- Influence de l'association de différentes souches sur leur développement dans le tractus digestif.

Certaines souches, qui ne s'implantent pas chez le rat axénique nourri du régime S.N., s'établissent quand on les associe avec d'autres. La souche de Streptocoque N°3 s'établit régulièrement quand elle est ensemencée en même temps que Cl.bifermentans n°26. Il en est de même de l'Acuformis n°21, ensemencé en même temps que la Veillonella n°1.

Cependant, l'association de plusieurs souches entraîne des variations importantes et imprévisibles de la multiplication d'une souche bactérienne donnée, selon les souches avec lesquelles elle est ensemencée. La lecture des tableaux VI et VII donne quelques exemples de ces variations. Dans le tableau VI sont représentées les numérations de quatre souches : le Sphaerophorus n°14, le Butyribacterium n°15, le Cl.bifermentans n°26 et le Plectridium n°28, dans le caecum de rats qui reçoivent le régime D.P. On remarque des variations de 1 à 100 pour la plupart des souches, mais en particulier l'antagonisme entre les souches 14 et 26. Quand ces souches sont ensemencées ensem-





TABLEAU VI - Développement des souches 14, 15, 26 et 28 dans le caecum de rats gnotoxéniques, selon qu'elles sont ensemencées seules ou diversement associées.

| Souches<br>ensemencées | log.10 nombre / g d'organe |     |     |     |
|------------------------|----------------------------|-----|-----|-----|
|                        | 14                         | 15  | 26  | 28  |
| 14                     | 8,9                        |     |     |     |
| 15                     |                            | 7,7 |     |     |
| 26                     |                            |     | 7,9 |     |
| 28                     |                            |     |     | 8,9 |
| 14 + 15                | 9,4                        | 7,3 |     |     |
| 14 + 26                | 9,1                        |     | 5,0 |     |
| 14 + 28                | 7,9                        |     |     | 6,9 |
| 15 + 26                |                            | 9,0 | 8,1 |     |
| 15 + 28                |                            | 9,2 |     | 8,7 |
| 26 + 28                |                            |     | 7,3 | 8,0 |
| 14 + 15 + 26           | 8,8                        | 7,5 | 6,1 |     |
| 14 + 15 + 28           | 9,0                        | 9,1 |     | 7,0 |
| 14 + 26 + 28           | 9,2                        |     | 8,1 | 7,5 |
| 15 + 26 + 28           |                            | 9,1 | 8,5 | 9,3 |
| 14 + 15 + 26 + 28      | 8,8                        | 9,0 | 8,3 | 9,5 |



ble, la souche 26 est 800 fois moins nombreuse que quand elle est implantée seule.

Le tableau VII présente des numérations de différentes bactéries, dans l'anse aveugle des rats gnotoxéniques qui reçoivent le régime S.N. Là aussi de très grosses variations sont observées : l'Acuformis n°21, par exemple, varie de cent mille chez les rats gnotoxéniques L 2 à dix milliards de cellules cultivables par gramme d'organe, chez les rats gnotoxéniques D; le streptocoque anaérobie facultatif n°10, varie de cent mille chez les rats gnotoxéniques I à cent millions de cellules cultivables par gramme d'organe chez les rats gnotoxéniques K, etc....

Le mélange des souches (1 + 4 à 8 + 11 + 15 + 21 + 25 + 26 + 30) a été donné à des rats axéniques porteurs d'une anse aveugle, dans le but de produire une stéatorrhée. Ces rats sont appelés rats gnotoxéniques M. Cinq sujets présentent ce symptôme, quatre sujets ne le présentent pas. Le tableau VIII représente la distribution de la population bactérienne qui se développe dans les divers compartiments de ces rats gnotoxéniques M. La répartition des streptocoques anaérobies stricts que l'on soupçonne de jouer un rôle dans ce trouble est représentée dans le tableau IX, en même temps que la répartition du streptocoque anaérobie strict n°4 chez trois rats monoxéniques A. L'ensemble des résultats peut être commenté comme suit :

1° - Les résultats de ces numérations sont très variables. Ces variations sont telles qu'il est impossible de mettre en évidence la prédominance de certaines souches chez les sujets qui présentent la malabsorption. Ceci s'applique, en particulier, à la répartition des streptocoques anaérobies stricts. La répartition du streptocoque anaérobie strict n°4 chez les rats monoxéniques A n'est pas sensiblement différente de la répartition des divers streptocoques anaérobies stricts chez les rats gnotoxéniques M.

2° - Par comparaison avec les sujets holoxéniques, porteurs d'une anse aveugle (voir figure 2, ligne N), la numération totale des bactéries cultivables, chez les rats gnotoxéniques, est plus faible au niveau de l'estomac pour tous les sujets et au niveau du 1er segment de l'intestin grêle pour six sur neuf de ces sujets. Il n'y a pas de différence dans l'anse aveugle, ni dans les compartiments situés après l'anse aveugle. Le Clostridium est beaucoup moins abondant que le Clostridium observé chez les rats holoxéniques (voir Tableau II), dans tous les segments et dans l'anse aveugle. L'Endosporus est moins abondant dans l'estomac et le premier segment de l'intestin grêle (voir Tableau II). Ainsi, il existe des différences dans le développement de certaines bactéries selon qu'elles se trouvent chez un sujet holoxénique ou gnotoxénique.





TABLEAU VII - Développement de différentes souches bactériennes dans l'anse aveugle  
de rats monoxéniques et polyxéniques.

| Rats gno-<br>toxéniques<br>(1) | Souches<br>ensem-<br>cées<br>(2)  | log.10 nombre de bactéries cultivées / gramme d'anse aveugle |   |       |   |       |       |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |
|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------|---|-------|---|-------|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|
|                                |                                   | 1                                                            | 2 | 3     | 4 | 5     | 6     | 10 | 11 | 15 | 21 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |  |
| A                              | 4                                 |                                                              |   |       | 8 |       |       |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |
| B                              | 21                                |                                                              |   |       |   |       |       |    |    |    | 9  |    |    |    |    |    |  |
| C                              | 25                                |                                                              |   |       |   |       |       |    |    |    |    |    | 8  |    |    |    |  |
| D                              | 1 + 21                            | 8                                                            |   |       |   |       |       |    |    |    | 10 |    |    |    |    |    |  |
| E                              | 3 + 26                            |                                                              |   | 8     |   |       |       |    |    |    |    |    |    | 4  |    |    |  |
| F                              | 2+4+5+6                           |                                                              | 3 |       | 9 | ? (3) | ? (3) |    |    |    |    |    |    |    |    |    |  |
| H                              | 21+25+26+<br>27 + 28              |                                                              |   |       |   |       |       |    |    |    | 9  |    | 8  | 8  | 7  | 7  |  |
| I                              | 1+2+3+10+<br>15 + 24              | 3                                                            | 3 | 4     |   |       |       | 5  |    | 4  |    | 4  |    |    |    |    |  |
| K                              | 10+11+15+<br>24+27+28             |                                                              |   |       |   |       |       | 8  | 9  | 7  |    | 8  |    |    | 6  | 7  |  |
| L 2                            | 1+2+3+4+5<br>+6+21+25*<br>26 + 27 | 9                                                            | 4 | ? (3) | 6 | ? (3) | 8     |    |    |    | 5  |    | 8  | 5  | 5  |    |  |

- (1) - La désignation des rats gnotoxéniques est indiquée dans le tableau XXXVII  
(2) - Le tableau est ordonné verticalement dans le sens du nombre croissant des souches  
(3) - ? = Impossible à numérer en présence des autres souches



- Répartition de diverses bactéries dans l'estomac, l'anse aveugle, divers segments de l'intestin grêle et le caecum chez des rats gnotoxéniques M présentant de la stéatorrhée (+) et des rats n'en présentant pas (-) . (log.10 des valeurs extrêmes)

| Bactéries                             | n°    | Stéatorrhée | Estomac   | I.G. 1    | Anse       | I.G. 2    | I.G. 3    | I.G. 4    | Caecum     |
|---------------------------------------|-------|-------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Nombre total de bactéries cultivables |       | +           | 4,9 à 6,9 | 5 à 7,7   | 9,3 à 9,7  | 7 à 9,0   | 7,8 à 9,8 | 8,6 à 9,3 | 9,5 à 10,0 |
|                                       |       | -           | 5,5 à 6,0 | 4,3 à 8,5 | 9,1 à 10,0 | 5,5 à 8,3 | 6,0 à 9,0 | 8,0 à 9,0 | 9,0 à 10,0 |
| <u>Veillonella</u>                    | 1     | +           | <3 à 4,0  | 4,5 à 6,9 | 7,5 à 9,3  | 6,4 à 8,7 | 7,4 à 9,3 | 6,2 à 8,9 | 7,8 à 9,4  |
|                                       |       | -           | <3 à 4,7  | <3 à 8,5  | 5,9 à 9,0  | <3 à 5,5  | <3 à 7,0  | 4,9 à 8,0 | 7,6 à 8,9  |
| Streptocoques anaérobies stricts      | 4 à 8 | +           | 3,0 à 4,0 | 5,0 à 7,0 | 8,8 à 9,3  | <7 à 8,2  | <6 à 8,5  | 8,6 à 8,8 | 8,8 à 9,3  |
|                                       |       | -           | <3        | <3 à 6,0  | 8,8 à 9,9  | <3 à 8,1  | <4 à 8,8  | 4,1 à 5,8 | 6,0 à 9,8  |
| Streptocoques anaérobies facultatifs  | 11    | +           | 3,9 à 6,9 | <3 à 7,0  | 6,8 à 7,6  | 6,0 à 6,0 | 5,6 à 6,9 | 6,7 à 7,0 | 7,5 à 7,6  |
|                                       |       | -           | 4,7 à 6,1 | 3,9 à 7,7 | 7,1 à 8,6  | 5,2 à 7,3 | 6,0 à 7,5 | 7,0 à 8,5 | 8,0 à 8,9  |
| <u>Butyribacterium</u>                | 15    | +           | <3 à 4,0  | <4 à 7,7  | 8,8 à 9,3  | 7,0 à 8,9 | 7,6 à 9,3 | 8,0 à 9,3 | 9,0 à 9,8  |
|                                       |       | -           | <3 à 5,0  | <3 à 5,6  | 8,3 à 9,3  | <4 à 8,0  | <4 à 8,8  | 6,0 à 9,0 | 8,7 à 9,0  |
| <u>Acuformis</u>                      | 21    | +           | <3 à 5,6  | <4 à 7,0  | 7,5 à 8,8  | 6,0 à 8,0 | 6,0 à 7,9 | 7,0 à 8,3 | 8,0 à 8,7  |
|                                       |       | -           | <3 à 5,0  | <3 à 4,0  | 8,0 à 8,2  | <4 à 6,2  | <4 à 7,3  | 6,7 à 7,0 | 7,7 à 8,2  |
| <u>Endosporus</u>                     | 25    | +           | <3 à 4,8  | <3 à 5,6  | 7,7 à 8,6  | <4 à 7,9  | <4 à 7,0  | <4 à 7,3  | <4 à 8,0   |
|                                       |       | -           | <3        | <3        | 7,1 à 8,6  | <3 à 6,0  | <4 à 6,3  | <6 à 7,3  | 7,0 à 7,7  |
| <u>Cl.bifermentans</u>                | 26    | +           | <3 à 5,4  | <3 à 4,0  | <3 à 6,5   | <3 à 5,2  | <3 à 4,9  | <3 à 5,4  | 4,4 à 6,7  |
|                                       |       | -           | <3 à 6,0  | <3 à 3,3  | 4,1 à 6,5  | <3 à 5,1  | <3 à 5,1  | <3 à 5,3  | 5,5 à 7,5  |
| <u>Welchia erfringens</u>             | 30    | +           | <3        | <3        | <3 à 6,7   | <3        | 3,0 à 4,5 | <3 à 5,6  | <3 à 6,7   |
|                                       |       | -           | <3        | 3,3       | 3,3 à 5,3  | <3        | <3        | <3        | <3         |





TABEAU IX

- Répartition de neuf rats gnotoxéniques M porteurs d'une anse aveugle en fonction du nombre de streptocoques anaérobies stricts dénombrés dans les différentes parties du tractus digestif, et en fonction de la présence (+) et de l'absence (-) de stéatorrhée. Les nombres entre parenthèses indiquent la répartition de trois rats monoxéniques A qui ne présentent pas de stéatorrhée, en fonction du nombre de streptocoques n° 4 dénombrés.

| Stéatorrhée                                        | Estomac       |   | I.G.1 (1) |       | Anse |       | I.G. 2 |       | I.G. 3 |       | I.G. 4 |       | Caecum |       |
|----------------------------------------------------|---------------|---|-----------|-------|------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                                                    | +             | - | +         | -     | +    | -     | +      | -     | +      | -     | +      | -     | +      | -     |
| Nombre de Streptocoques en $\log_{10}$ /g d'organe | 9 à 10        |   |           |       | 3    | 1 (1) |        |       |        |       |        |       | 3      | 3 (2) |
|                                                    | 8 à 9         |   |           |       | 2    | 1 (2) | 2      | 1     | 1      | 2 (1) | 4      | 4 (1) | 2      | 1 (1) |
|                                                    | 7 à 8         |   |           |       |      | 2     | 2      | 1 (2) | 3      | (2)   | 1      | (2)   |        |       |
|                                                    | 6 à 7         |   | 1         |       |      |       |        | (1)   |        | 1     |        |       |        |       |
|                                                    | 5 à 6         |   | 1         | 1 (1) |      |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
|                                                    | 4 à 5         | 1 | 2         | 1 (2) |      |       |        |       |        |       |        |       |        |       |
|                                                    | 4 ou n.d. (2) | 4 | 4 (3)     | 1     | 2    |       | 1      | 2     | 1      | 1     |        |       |        |       |

(1) - I.G.1, I.G.2, I.G.3, I.G.4 = 1er, 2e, 3e et 4e segment de l'intestin grêle

(2) - n.d. - impossible à dénombrer





Ces divers exemples montrent que les bactéries intestinales agissent les unes sur les autres, en sorte qu'il est impossible de prévoir le résultat de leur association sur leur développement dans le tractus digestif. Quand le nombre des bactéries qui sont associées chez le rat gnotoxénique, augmente, la microflore devient aussi variable que celle des rats holoxéniques.

## DISCUSSION

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — :

Il convient, pour apprécier le résultat des analyses faites chez les rats holoxéniques, de ne pas perdre de vue les limites des techniques employées.

Le dénombrement des lactobacilles dominants , d'E.coli, des streptocoques du groupe Str.faecalis et des levures par les méthodes utilisées donne probablement un reflet exact des variations quantitatives de ces groupes microbiens. Les microcoques peuvent être aisément distingués des staphylocoques.

Mais certains streptocoques anaérobies facultatifs sont difficiles à dénombrer si les lactobacilles sont plus abondants qu'eux, les Actinobacillus sont parfois impossibles à dénombrer si les Escherichia sont trop nombreux. Les difficultés sont encore beaucoup plus grandes lorsqu'on considère le dénombrement des anaérobies stricts. Si les nombres de V.illonella de Ristella, de Clostridium et de streptocoques anaérobies stricts résistant à l'acide propionique sont relativement aisés à déterminer, il n'en va pas de même de ceux des autres anaérobies stricts, cocci ou bâtons, à Gram-positif ou négatif.

De même l'analyse bactériologique des contenus intestinaux des rats gnotoxéniques M présentent des difficultés techniques. Les souches de streptocoques anaérobies stricts et d'Acuformis sont faciles à dénombrer quand elles sont en nombre élevé. Mais la présence du Butyribacterium rend leur dénombrement difficile lorsqu'elles sont moins abondantes.

Quoiqu'il en soit, cette étude permet de mettre en évidence certains caractères bien définis de la flore gastro-intestinale du rat : cette flore est abondante; elle est différente dans l'estomac, l'intestin grêle et le caecum; elle est extrêmement variable d'un sujet à un autre, d'un seg-



ment de l'intestin grêle à un autre chez un même individu; elle varie très certainement au cours du temps. BORSIDE et COHN (19), GORBACH et coll. (70) ont montré chez l'homme des faits semblables : alors que la microflore de l'intestin grêle est en général très peu abondante, cet organe est traversé par des flux parfois très abondants de bactéries.

L'abondance de la flore stomacale est sans doute favorisée par le fait que, chez le rat, seule la moitié postérieure de l'estomac est sécrétrice et que par comparaison avec d'autres espèces animales, le pH de cette partie de l'estomac est relativement élevé. Celui-ci est de 3,8 chez le rat, 3,4 chez le chien, 3,3 chez le cheval, 3,0 chez l'homme et le mouton, 2,4 chez le boeuf, 2,2 chez le porc, 1,9 chez le lapin. Seules quelques espèces, telles que la poule et le chat ont un pH stomacal plus élevé (pH = 4,2) que celui du rat (177).

Le potentiel d'oxydo-réduction joue sans doute aussi un rôle. Les anaérobies stricts les plus exigeants ne se développeraient qu'à partir du caecum. Mais il convient de remarquer que, bien que la population de l'estomac soit constituée en majeure partie d'anaérobies facultatifs, les lactobacilles, "in vitro" prolifèrent mieux en anaérobiose, les levures sont microaérophiles, les Veillonella et les Ristella sont des anaérobies stricts. La présence d'air apporté par les déglutitions n'empêche pas le développement de ces anaérobies stricts. Enfin, c'est la flore intestinale elle-même qui détermine le très bas niveau de potentiel d'oxydo-réduction du caecum (209).

Le nombre de bactéries cultivables au niveau d'un segment du tractus gastro-intestinal dépend de la vitesse du transit. Nous verrons que celle-ci n'est pas la même chez un rat axénique et chez un rat holoxénique (p.45) et par conséquent, elle est dans une certaine mesure sous la dépendance de la microflore elle-même. Il existe une certaine relation entre la vitesse du transit et le nombre de bactéries cultivables au niveau des diverses parties du tube digestif. En effet, d'après MARCUS (128), le temps moyen de transit est de l'ordre de 36 à 60 minutes dans l'estomac, 6 minutes dans le premier segment de l'intestin grêle, 18 minutes dans le second, 24 et 72 minutes dans le troisième, 102 à 120 minutes dans le quatrième. Il peut être estimé à plusieurs heures au niveau du caecum, un peu moins de dix heures d'après notre estimation (p.47). Si on fait les rapports entre les temps de transit dans les diverses parties du tube digestif et le nombre de bactéries qui s'y trouve (tableau X), on constate un certain accord entre ces deux valeurs, surtout au niveau du troisième et quatrième segment de l'intestin grêle et du caecum. D'autres actions s'ajoutent sans doute au niveau du premier et du deuxième segment de l'intestin grêle pour diminuer le nombre de bactéries cultivables.

Cependant, la vitesse de transit propre des bactéries n'est pas nécessairement semblable à celle de l'ensemble où elles baignent et il est vraisemblable qu'elle varie selon leurs formes, leurs dimensions, leur mobilité





propre, la tendance que possèdent certaines espèces à proliférer au contact de la muqueuse digestive. SAVAGE et coll., (168, 169) ont montré que les levures formaient une assise à la surface de la muqueuse de la partie sécrétrice de l'estomac et que certaines bactéries fusiformes se comportaient d'une manière semblable à la surface de l'épithélium dans le caecum.

La bile joue certainement un rôle important en s'opposant au niveau de l'intestin grêle à la prolifération de certaines bactéries. Il est connu qu' "in vitro" le désoxycholate à la concentration de 1 p. 1 000, favorise le développement d'E.coli. GRABER et coll., (80) observent une augmentation de Clostridium perfringens chez les rats qui reçoivent un régime riche en beurre, et du cholate de sodium. Au cours d'étude "in vitro", SHIMADA et coll. (172) observent qu'à la concentration de 2 p. 1 000, le taurocholate et le glycocholate inhibent seulement deux souches de Bacteroides et une souche de Veillonella parmi les 80 souches d'anaérobies stricts et les 21 souches d'anaérobies facultatifs qu'ils cultivent. A la même concentration, le glycodésoxycholate et le taurodésoxycholate inhibent toutes les souches de cocci anaérobies et toutes les souches de Fusobacterium. Un certain nombre de souches sont encore inhibées par une concentration de 0,5 p. 1 000 (173). TABAQCHALI (186) signale chez l'homme qui présente le syndrome de l'anse aveugle, des concentrations de cet ordre. Ainsi le désoxycholate, qui est un produit du métabolisme de certaines bactéries, est susceptible d'interférer à son tour avec le métabolisme d'autres bactéries. Enfin, SACQUET et coll., (167) montrent que la déviation de la bile soit vers la vessie urinaire, soit vers la partie terminale de l'iléon est suivie, dans le premier cas, d'une prolifération importante des Escherichia, des staphylocoques, des microcoques, avec diminution du nombre des lactobacilles, et dans le second cas, d'une augmentation importante de Str. faecalis, des Escherichia, des Clostridium et des Welchia.

La variabilité de la flore microbienne provient de ce que la plupart des facteurs dont elle dépend sont eux-mêmes très variables. La prolifération des microorganismes dépend évidemment de l'abondance et de la nature des nutriments mis à leur disposition, qui sont d'origine endogène, (sécrétions diverses, desquamations de l'épithélium intestinal) et d'origine exogène, c'est à dire alimentaire. Or, la prise d'aliment est souvent irrégulière chez le rat, ainsi d'ailleurs que la coprophagie. Le jeûne diminue considérablement le nombre des bactéries au niveau de l'intestin grêle, en particulier celui des lactobacilles (136). L'importance de l'influence qu'exerce



l'aliment sur le développement de la flore microbienne du tractus digestif est soulignée ici par deux observations. La flore microbienne de l'estomac et du caecum des rats holoxéniques, qui reçoivent le régime "semi-synthétique" S.N., est moins abondante que celle des rats qui reçoivent un aliment commercial (Tableau XI). L'implantation des souches ensemencées chez le rat axénique est favorisée par le régime D.P., comparé au régime S.N.. Le mécanisme de cette action est inconnu.

La vitesse du transit gastro-intestinal varie en fonction de la prise d'aliment et de la nature de l'aliment. Nous aurons l'occasion de voir que, chez des sujets qui se trouvent placés dans des conditions semblables, cette vitesse de transit varie considérablement (p. 45 ). La quantité de taurocholate varie aussi beaucoup d'un segment intestinal à un autre (p. 82 ).

Enfin, l'étude du développement des bactéries chez les rats gnotoxéniques met en évidence l'importance que jouent les interactions bactériennes dans l'établissement des équilibres bactériens. DUCLUZEAU et coll. (54) ont attiré l'attention sur le rôle de ces interactions, et montré qu'une variation d'une espèce microbienne peut entraîner par un mécanisme intégré des variations de tout l'ensemble.

Les analyses du contenu de l'anse aveugle jéjunale de neuf rats holoxéniques montrent qu'il s'établit chez ces sujets une flore abondante de type caecal au niveau de ce cul de sac. Ces observations s'accordent bien avec celles de NYGAARD (136) qui décrit une diminution relative des lactobacilles, une augmentation des coliformes, des entérocoques, des clostridia, et des Bacteroïdes, celles de DONALDSON (51), qui attire l'attention sur l'importance des Bacteroïdes et des streptocoques anaérobies stricts, et celle de KENT et coll. (113) qui décrivent une augmentation d'E.coli et des Bacteroïdes. Cette similitude est importante, en raison de la diversité des techniques utilisées par les divers auteurs.

Nous différons cependant de ces auteurs sur quelques points. La diminution relative des lactobacilles dominants signalée par NYGAARD est réelle, mais cependant, il est douteux que leur valeur absolue diminue, surtout au niveau de l'anse, et il nous paraît plus exact de dire que les lactobacilles n'augmentent pas comme l'ensemble des bactéries cultivables. L'augmentation des streptocoques anaérobies stricts est une des caractéristiques les plus importantes de ces modifications. Mais ces bactéries sont cependant complètement absentes en flore dominante, chez deux rats sur neuf, ce qui illustre bien le caractère spécifique de ces variations de la microflore. Surtout, ce sont les modifications qui se produisent en dehors de l'anse qui méritent ici d'être signalées. NYGAARD note une augmentation modérée, qui por-





TABLEAU X - Comparaison entre le temps de transit et le nombre de bactéries cultivables dans le tube digestif du rat holoxénique.

| Rapport du temps de transit dans les divers organes au temps de transit dans l'estomac       | Estomac | I.G. 1            | I.G. 2          | I.G. 3          | I.G. 4      | Caecum |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-------------------|-----------------|-----------------|-------------|--------|
|                                                                                              | 1       | 0,16<br>à<br>0,10 | 0,5<br>à<br>0,3 | 0,6<br>à<br>1,1 | 3<br>à<br>2 | 10     |
| Rapport du nombre de bactéries dans les divers organes au nombre de bactéries dans l'estomac | 1       | 0,02              | 0,04            | 0,7             | 3,2         | 8      |

TABLEAU XI - Influence du régime alimentaire sur le nombre total moyen de bactéries cultivables (exprimé en log. 10 par gramme d'organe frais) chez des rats "holoxéniques" non opérés.

|                         | Estomac | Caecum |
|-------------------------|---------|--------|
| Régime commercial D.P.  | 8,5     | 9,4    |
| Régime semi-synthétique | 7,8     | 8,7    |





te surtout sur E.coli au niveau du segment d'intestin grêle situé en amont de l'anse. Or, il apparaît ici que le nombre total de bactéries cultivables augmente d'une manière importante au niveau de ce segment de l'intestin grêle. Cette augmentation est non seulement le fait d'E.coli, mais aussi des staphylocoques et microcoques, des clostridia, des Endosporus, des streptocoques anaérobies stricts. Certaines de ces modifications s'étendent jusque dans l'estomac. Quant à celles qui se produisent en aval de l'anse, elles se font sentir jusque dans le caecum. Les observations de PANISH (139), selon lesquelles l'intestin grêle en aval de l'anse demeure stérile, celles de BISHOP (15), selon lesquelles, en aval et en amont de l'anse, l'intestin grêle demeure "bactériologiquement normal", apparaissent inexactes, et les observations de WATSON et WITTS (198), de NYGAARD (136), de HOET et EYSEN (97), de KENT et coll. (100) selon lesquelles des modifications importantes de la microflore se produisent dans les segments de l'intestin grêle qui sont situés en aval de l'anse sont confirmées.

Les mécanismes selon lesquels se produisent ces modifications demeurent à élucider. Deux facteurs certainement jouent un rôle important : la stase qui se produit dans l'anse et l'arrivée de la bile au niveau d'une importante population microbienne avant que les acides biliaires aient pu être réabsorbés en quantités importantes. Il y a incontestablement stase dans une anse que le péristaltisme tend à remplir et ainsi s'explique la prolifération très importante des bactéries dans l'anse aveugle. Mais il est très douteux que la stase puisse à elle seule expliquer les modifications sélectives que nous décrivons. D'après NYGAARD (136), lorsqu'on établit une anse que le péristaltisme tend, non pas à remplir, mais au contraire, à vider, les modifications de la flore sont beaucoup plus discrètes, mais au niveau de cette anse il se produit cependant une augmentation relative d'E.coli et une diminution des lactobacilles. Enfin, l'arrivée de la bile dans une région riche en bactéries, comme cela se produit dans le cas d'une fistule cholédoque-iléon, s'accompagne d'une augmentation de certaines espèces ou genres bactériens (167).

#### C O N C L U S I O N

--:--:--:--:--:--:--:--:--:--

Le rat fait partie des espèces animales qui possèdent, à l'état holoxénique, une flore microbienne abondante depuis l'estomac jusque dans les parties terminales du tube digestif. Le nombre total des bactéries cultivables diminue brusquement dans le premier quart de l'intestin grêle pour remonter progressivement dans les segments suivants. Mais la microflore de l'intestin grêle n'est pas une microflore de transition où la nature et le



nombre des microorganismes varient progressivement et uniformément de l'estomac au caecum : qualitativement, elle est très différente de celle du caecum et demeure semblable à celle de l'estomac, elle renferme comme l'estomac très peu d'anaérobies stricts (Veillonella, Ristella), mais elle en diffère par des variations quantitatives souvent très importantes qui concernent les différents microorganismes qui la composent.

La formation d'une anse aveugle au niveau du jéjunum transforme complètement la flore de l'intestin grêle, qui devient semblable à celle du caecum. Ces modifications n'épargnent pas le premier segment de l'intestin grêle, situé en amont de l'anse et s'étendent, en fait, à la totalité du tube digestif, de l'estomac au caecum. Cependant, la flore microbienne, qui s'est ainsi développée au niveau de l'intestin grêle, demeure aussi variable que celle des sujets non opérés.

L'ensemencement du rat axénique par des souches bactériennes permet d'étudier des situations écologiques beaucoup plus simples que les précédentes. Mais les connaissances actuelles ne permettent pas de maîtriser cette méthode : le développement des souches qui sont ensemencées dépend de facteurs que nous commençons seulement à connaître et dont la nature nous échappe encore.





## CHAPITRE II

# ACTION DE LA MICROFLORE

# GASTRO - I N T E S T I N A L E      S U R      L A      P H Y S I O L O G I E

DE L'APPAREIL DIGESTIF ET LE

M E T A B O L I S M E   D E   L ' H O T E

# INTRODUCTION

— 4 —

L'étude présentée dans le chapitre précédent montre que la microflore du tractus digestif est constituée d'un ensemble très complexe de bactéries qui, d'une part, agissent les unes sur les autres et qui, d'autre part, dépendent des caractéristiques propres de l'hôte au point que le simple fait de modifier un caractère du tractus digestif détermine des transformations importantes de cette microflore. Celle-ci, à son tour, agit sur la physiologie de l'hôte. L'organisme polyxénique est le résultat de ces diverses interactions.

L'action de la flore microbienne sur la physiologie de l'hôte s'apprécie en considérant les différences qui séparent l'organisme axénique de l'organisme polyxénique.

Les études faites durant ces dix dernières années montrent que le rat axénique est très différent du rat polyxénique. Il en résulte que souvent l'étude d'un métabolisme particulier du rat axénique présente des difficultés d'interprétation. Celle-ci n'est possible que dans la mesure où l'expérimentateur connaît le contexte, c'est à dire l'ensemble des caractères qui sont propres à l'état axénique.

Après une brève revue bibliographique des principaux caractères connus propres à l'état axénique, nous présenterons dans ce chapitre notre contribution au développement de ces connaissances, nous essaierons d'en dégager les faits essentiels et d'en discuter les conséquences.



## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### Hypertrophie du caecum du rat axénique

Le développement anormal du caecum chez les rongeurs axéniques est le caractère le plus important du tractus digestif de ces animaux. Chez le rat axénique le caecum est trois à sept fois plus lourd que chez le rat polyxénique (79).

L'ingestion par des rats axéniques d'une suspension de matières fécales de rats polyxéniques permet d'obtenir en quelques jours la réduction du sac caecal (78). Divers auteurs ont essayé d'obtenir un résultat semblable avec des souches bactériennes isolées ou associées. SKELLY (175) obtient une réduction totale du caecum avec une souche de Clostridium difficile ou en associant deux souches de Bacteroides qui étaient inactives séparément. Ces travaux ne sont pas confirmés, et au contraire d'autres auteurs (86, 205) n'obtiennent avec Clostridium difficile qu'une réduction temporaire, le caecum retournant par la suite à son aspect initial. WISEMAN et COLE (205) obtiennent de même avec Salmonella thyphimurium une réduction temporaire. Récemment, LOESCHE (125, 126) essaie de réduire le caecum du rat et de la souris axéniques à l'aide de mélanges de diverses bactéries. Il obtient, dans les meilleures conditions une réduction de 50 à 65 % et conclut que, vraisemblablement, la réduction du caecum chez le rongeur polyxénique est le fait d'un concours de divers microbes.

De nombreuses tentatives sont faites pour expliquer l'hypertrophie caecale des rongeurs axéniques.

STRANDBERG et coll. (180) étudient les amines biologiquement actives du contenu caecal et montrent que la musculature du caecum des rats axéniques ne réagit pas de la même manière que celle des rats polyxéniques à l'action de ces amines.

Pour GORDON (72) la distension caecale aurait pour origine la présence, au niveau du caecum, de kallikréine et de polypeptides qui diminueraient le tonus des muscles lisses et qui, chez les rongeurs polyxéniques, seraient détruits par la microflore.

La teneur en eau du contenu caecal est plus élevée chez l'animal axénique. GORDON et coll. (76) rapprochent ce fait du léger état d'hémococoncentration observé chez le rat axénique, et observe que cet état disparaît si on procède à la caeectomie. Il y aurait donc, chez l'axénique, un passage plus important de l'eau plasmatique dans le caecum.

On ignore s'il y a un rapport entre cette teneur élevée en eau, au niveau du caecum, et la distension de cet organe. ASANO (4) n'observe





pas de diminution de la teneur en eau vingt-quatre heures après l'ensemencement par Clostridium difficile, bien qu'une très forte diminution du volume caecal se soit déjà produite à ce moment. Chez ces rats monoxéniques, ASANO observe que l'osmolarité et la concentration en potassium ne sont pas modifiées mais que, par contre, la conductivité électrique, les concentrations en sodium, en chlore, en anhydride carbonique sont augmentées. Cet auteur augmente la concentration en chlore du contenu caecal du rat axénique en introduisant dans l'aliment une résine chargée d'ions chlore : il obtient ainsi une réduction partielle du caecum (6). Cependant, chez ces sujets, ASANO observe aussi une diminution de la teneur en eau et de l'osmolarité qui ne se produit pas chez le rat ensemencé par Clostridium difficile. Chez la souris, Clostridium difficile détermine, comme chez le rat, une réduction du poids du caecum et une augmentation de la concentration en chlore. Cependant, au bout de quelques jours la concentration en chlore diminue, alors que le caecum demeure réduit (5) : le volume du caecum n'évolue pas d'une manière rigoureusement inverse de la concentration en ions chlore.

Le mucus intestinal peut être hydrolysé par des enzymes d'origine bactérienne. LINDSTEDT et coll. (124) déterminent la quantité de mucus contenue dans le caecum en mesurant la quantité des hexosamines et montrent que, chez le rat axénique, la concentration du mucus dans le caecum est le double de celle qui est observée chez le rat polyxénique. Après ensemencement d'animaux axéniques par la microflore d'animaux polyxéniques, ils montrent une excrétion fécale accrue de mucus, concomittante d'une réduction du caecum. Ces auteurs suggèrent que le mucus s'accumule dans le caecum de l'axénique qui voit sa taille augmenter.

#### Autres modifications morphologiques et physiologiques du tractus gastro-intestinal

Il n'existe aucune étude morphologique et physiologique concernant l'estomac des animaux axéniques. La paroi de l'intestin grêle du rat axénique est moins vascularisée, contient moins d'eau, moins de tissu conjonctif et la lamina propria contient moins de cellules : bref, il n'existe pas, au niveau de la muqueuse de ce sujet, un état inflammatoire qui est de règle chez le sujet polyxénique (73).

La surface de la muqueuse du rat axénique serait réduite de 30 % (74). La vitesse de renouvellement de l'épithélium n'a pas été étudiée chez le rat. Mais chez la souris axénique, ABRAMS et coll. (1) montrent qu'elle est plus faible au niveau de l'iléon et LESHER et coll. (121) au niveau du duodénum.





Aucune étude méthodique de l'influence de la flore microbienne sur l'absorption des nutriments n'a été faite. HENEGHAN (97) rapporte qu'au niveau de l'intestin grêle, l'absorption de l'eau, du sodium, du potassium est semblable chez les rats polyxéniques et axéniques, mais que l'absorption du d-xylose est plus importante chez le rat axénique. Pour PHILLIPPS (141) le passage dans le sang du tryptophane  $1 - C^{14}$  est plus rapide chez le rat axénique; pour WIECH (200), le passage dans le sang du linoléate est semblable chez les deux catégories de rats.

ABRAMS et BISHOP (2) montrent que le transit gastro-intestinal est beaucoup plus lent chez la souris axénique et cela à tous les niveaux de l'appareil digestif.

Le pH des cavités digestives du rat axénique (209) est inchangé dans l'estomac, l'intestin grêle, et plus élevé d'une unité dans le caecum et le colon. Le potentiel d'oxydoréduction de la cavité caecale est beaucoup plus positif chez le rat axénique (209).

BORGSTROM et coll. (18), REDDY et coll. (151, 152) décrivent des différences importantes concernant les enzymes digestives : l'intestin grêle du rat axénique contient davantage de disaccharidases, les enzymes pancréatiques subissent peu de modifications dans l'intestin grêle, mais à partir du caecum il se produit une dégradation de ces enzymes qui est plus importante chez le rat polyxénique que chez le rat axénique.

#### Modification de la composition corporelle et du métabolisme

La croissance du rat axénique est, d'après GORDON, inférieure à celle du rat polyxénique, surtout si on déduit le poids du caecum du poids vif, comme le propose cet auteur (76). LEVENSON et TENNANT (123) estiment qu'au contraire, la croissance de la souris axénique est supérieure à celle de la souris polyxénique. Ces auteurs mettent, d'autre part, en évidence que la composition corporelle du rat Fischer femelle axénique âgé de 15 semaines est semblable à celle du polyxénique, à deux exceptions près : le rat axénique contient une quantité totale et, par rapport à son poids vif, une proportion plus importante de graisse, ainsi qu'une proportion plus importante d'eau. COMBE et coll. (28) n'observent pas de différences entre la composition corporelle du rat "Lobund" axénique et celle du rat "Lobund" holoxénique, hormi une teneur en minéraux plus élevée chez l'axénique.

Le métabolisme de base du rat axénique est inférieur à celui du rat polyxénique (43, 122, 210). GORDON et coll., montrent que la circulation sanguine est considérablement diminuée chez le rat axénique : au niveau du coeur elle n'est que les deux tiers de ce qu'elle est chez le rat polyxénique,



au niveau du foie, la moitié. La caecectomie (210) fait disparaître presque entièrement ces différences et rétablit le métabolisme de base à une valeur voisine de celle qui est observée chez le rat polyxénique. Le caecum du rat axénique contient une quantité importante d'un "alpha" pigment qui est un produit de la dégradation enzymatique de l'apoferritine (77). Ce pigment est en grande partie détruit par les bactéries chez l'holoxénique. Selon GORDON et coll., chez l'axénique il passerait dans la circulation générale et exercerait une action hypotensive, vasodilatatrice, et antagoniste de l'adrénaline. L'ablation du caecum, lieu où se forme, s'accumule et se produit l'absorption de cet "alpha" pigment, entraîne le rétablissement de la circulation sanguine et du métabolisme de base aux valeurs observées chez le rat polyxénique.

#### Conclusions de l'étude bibliographique - Définition du travail expérimental

En l'absence de flore microbienne, l'organisme du rat présente des caractères originaux et inattendus.

L'attention des chercheurs a d'abord été attirée par le développement anormal du caecum. Malgré de nombreux travaux, il persiste beaucoup d'obscurités au sujet de cette anomalie. Il n'existe pas de données chiffrées bien établies concernant l'importance du développement pondéral de cet organe chez les sujets d'expérience. Il n'existe aucune étude dans laquelle une réduction totale et définitive du caecum par des souches bactériennes ait été obtenue. L'obtention de sujets qui possèdent ce caractère est cependant indispensable à toute étude expérimentale qui se propose de distinguer les caractères qui sont liés à la réduction du caecum de ceux qui ne sont que des épiphénomènes.

Le transit gastro-intestinal, la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal ont été étudiés chez la souris, alors que la plupart des études de nutrition sont faites chez le rat. Le fait que l'absence de flore s'accompagne d'une diminution de la croissance chez le rat et d'une augmentation chez la souris montre qu'il est impossible d'étendre les résultats observés chez la souris au rat, et que les conséquences qu'entraîne l'absence de microflore doivent être étudiées au sein de chaque espèce.

Il n'existe que des données fragmentaires concernant l'absorption intestinale, la croissance, la composition corporelle. Les conséquences d'une diminution importante de la circulation sanguine au niveau du foie n'ont pas été étudiées.

Enfin, la découverte que la caecectomie rétablit la circulation sanguine et le métabolisme de base à des valeurs qui sont voisines de celles du rat polyxénique, incite l'expérimentateur à considérer que le rat





axénique caeectomisé est, peut-être, un meilleur sujet d'expérience que le rat axénique intact. Il paraît donc utile de considérer les conséquences de la caeectomie sur d'autres caractères physiologiques du rat axénique.

C'est dans cet esprit que, chez le rat, nous avons étudié l'influence de la flore microbienne du tractus digestif sur le poids du caecum et divers phénomènes physiologiques : le renouvellement de l'épithélium de l'intestin grêle, (84, 166), l'absorption passive (119), le transit gastro-intestinal (164), la "clearance" hépatique de la bromosulfonephtaléine (145), le métabolisme de base (43) et la croissance pondérale.

## M A T E R I E L   E T   M E T H O D E S

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

### ANIMAUX D'EXPERIENCE ET REGIMES ALIMENTAIRES

Outre les rats C.F. et Fischer, sont utilisés des rats Lobund "axéniques" reçus du Lobund Institute en Juin 1960. Les rats Lobund hoxéniques sont obtenus en faisant ingérer aux sujets axéniques une suspension de matières fécales de rats holoxéniques d'une autre race.

Outre les régimes S.N. et D.P., est utilisé le régime L qui a la composition pondérale suivante : caséine 20, crème de riz 58, poudre de foie 2, extrait de levure 2, huile de maïs 5, poudre de cellulose 5, méthionine 0,3, mélange minéral et vitaminique 5,5.

### ETUDE DE L'HYPERTROPHIE CAECALE

I - Méthodes bactériologiques - Les techniques utilisées pour numérer les bactéries, ensemençer les rats axéniques sont indiquées p. 8. Le numérotage des souches bactériennes utilisées dans le but de réduire le caecum a été indiqué dans le tableau I.

### II - Méthodes physiques et chimiques

Détermination du poids sec du contenu caecal - Cette détermination est faite en pesant les contenus avant et après dessiccation jusqu'à poids constant par lyophilisation.

Dosage des Hexosamines - Les échantillons lyophilisés sont dilués par de l'eau distillée, centrifugés, hydrolysés par l'acide chlorhydrique N puis neutralisés. Les hexosamines sont dosées par la méthode de BELCHER et coll. (11)



Dosage du sodium et du potassium - Les échantillons lyophilisés sont minéralisés au four à 550°C jusqu'à obtention de cendres blanches. L'échantillon est repris par 5 ml d'HCl concentré, évaporé à sec et repris avec  $\text{HNO}_3$  (v/v). Ce traitement vise à éliminer la silice après filtration. On amène ensuite le filtrat aux dilutions appropriées. Ces dosages sont faits par spectrophotométrie de flamme avec un spectrophotomètre Eppendorf (83).

Dosage du chlore - Le prélèvement frais du contenu caecal est dilué dans 50 ml d'eau distillée, centrifugé. Le surnageant est lyophilisé et repris par un volume d'eau défini qui sert au dosage. Celui-ci est fait selon la technique décrite par GIRAUDET et coll. (69).

#### MESURE DE LA VITESSE DE RENOUVELLEMENT DES ENTEROCYTES

Il est possible de mesurer la vitesse de remplacement des entérocytes

- soit en marquant par un isotope radioactif, dont on recherche la trace les cellules naissant au niveau de la crypte, puis en comptant le temps qu'elles mettent pour atteindre le sommet de la villosité,

- soit en déterminant l'index mitotique des cellules de la crypte, (rapport du nombre des cellules en mitose au nombre total des cellules), qui permet d'accéder indirectement à la donnée, si l'on a préalablement déterminé la durée du cycle mitotique et le nombre moyen des cellules-souches contenues dans les cryptes. Les deux techniques sont utilisées.

Les sujets expérimentaux subissent, en une seule opération, une injection intrapéritonéale d'environ 370 microcuries de thymidine tritiée provenant du même lot (C.E.A. solution stérile 18 Ci/mM). Pour éviter l'interférence d'un éventuel rythme nycthéméral de l'activité mitotique, l'injection se fait dans un espace de temps très court pour les deux lots.

Les rats sont sacrifiés par élongation cervicale à des intervalles de temps progressivement croissants. Ils sont alors pesés et éviscérés pour étude histologique. La fixation se fait après lavage délicat du tube digestif au soluté physiologique dans un fixateur alcoolique de composition : alcool éthylique pur 6 parties, formol du commerce 3 parties, acide acétique pur 1 partie. Les pièces sont fixées 8 à 12 h. Les préparations histologiques sont effectuées sur lames gélatinées.

L'histoautoradiographie se fait avec une émulsion liquide (K 2 ILFORD) et un temps de pose de 6 à 8 semaines au réfrigérateur (+ 4°C). Les préparations sont colorées selon la technique classique à l'hémalum-éosine. La lecture des résultats est faite par deux expérimentateurs dont l'un d'entre eux ignore la provenance de la lame. L'index mitotique est calculé sur des préparations portant sur les deux lots d'animaux, à partir de prélèvements



vements effectués au même moment de la journée, et colorés par la méthode trichromique de Cajal.

Dans l'expression des résultats, seules sont prises en compte les données provenant de villosités sectionnées selon un plan approximativement médian (une seule assise cellulaire). Le résultat obtenu représente la valeur moyenne de plusieurs comptages effectués sur 7 à 13 villosités selon les cas.

#### MESURE DE L'ABSORPTION INTESTINALE

Technique de perfusion - La technique de perfusion est celle de SCHANKER et coll (171). Cette technique consiste à perfuser l'intestin grêle in situ, chez le rat anesthésié, par un soluté physiologique qui contient la substance dont on veut mesurer l'absorption.

L'absorption est appréciée en mesurant la concentration dans le liquide de perfusion avant et après le passage dans l'intestin.

- L'acide paraaminobenzoïque est dosé par colorimétrie par la méthode de BONAMY (16)

- Le dosage du d-xylose est fait par la méthode à l'orcinol de BIAL (14)

- Le rouge de Phénol est dosé, par mesure de l'absorption à 560 nm après alcalinisation par la soude.

- L'acide salicylique et l'acide acétylsalicylique sont extraits et dosés selon la méthode spectrophotométrique décrite par SCHANKER et coll. (171)

#### MESURE DE LA VITESSE DU TRANSIT GASTRO-INTESTINAL

La vitesse du transit gastro-intestinal est mesurée par la méthode bactériologique de CONTREPOIS et GOUET (33). Cette technique consiste à faire ingérer à l'animal une suspension de spores d'une souche thermophile strictement Bacillus subtilis et à numérer les spores en cultivant celles-ci en milieu gélosé. Cette technique a subi quelques modifications. Il existe chez le rat holoxénique quelques bactéries thermophiles. Pour éviter les difficultés de lecture qui auraient pu provenir de la prolifération de ces bactéries dans le milieu de culture, la souche a été rendue résistante à une concentration de 100 µg de Streptomycine par ml de milieu. La suspension de spores est administrée par sonde stomacale dans un volume de 4 ml d'eau distillée. Les rats sont sacrifiés à divers intervalles de temps après l'administration des spores. Les différents segments du tractus digestif sont immédiatement prélevés, pesés et broyés en eau distillée, dilués, et les dilutions sont ensemencées en aérobiose dans le milieu de culture qui contient 100 µg/ml de





Streptomycine. La lecture est faite après 24 heures d'incubation à 60°. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la dose retrouvée pour chaque rat. Les résultats sont exprimés par les moyennes arithmétiques des pourcentages observés dans chaque segment, et l'écart-type de ces moyennes. Dans certaines circonstances, il a été établi un indice de transit pour certains segments du tube digestif, indice qui est le rapport :

$$\frac{\text{Quantité de spores sorties du segment} \times 100}{\text{Quantité de spores ayant pénétré dans le segment}}$$

#### MESURE DU METABOLISME DE BASE, DE LA FONCTION THYROIDIENNE, DE L'IODEMIE

La mesure du métabolisme de base est faite au moyen de l'appareil de Bargeton. Sa valeur est exprimée en calories/m<sup>2</sup>:heure (10).

Mesure de la fixation de l'I<sup>131</sup> par la thyroïde. L'iode est administré par voie sous-cutanée sous forme d'INa à des rats qui ont reçu un régime pauvre en iode. Chaque sujet reçoit 2 microcuries dans un volume de 1 ml par voie sous-cutanée, après avoir été mis à la diète hydrique 12 heures avant l'injection. Les thyroïdes sont prélevées 24 heures après l'injection, après exsanguination des sujets. La radioactivité des thyroïdes est mesurée avec un compteur à scintillation solide du type compteur-puits.

Mesure de l'iodémie - L'iode est mesuré par la méthode automatique décrite par COMOY (32).

L'iode sérique est mesuré directement. L'iode lié aux protéines est dosé après agitation du sérum avec une résine échangeuse d'ions (R.I.) qui capte l'iode minéral (0,5 g de résine pour 1 ml de sérum). L'iode extractible par le butanol est dosé après extraction par la technique de BENOTTI et PINO (12).

#### MESURE DE L'ELIMINATION DE LA BROMOSULFONEPHTHALEINE

Le rat est préalablement anesthésié au nembutal par voie intrapéritonéale. Une canule est placée dans la veine jugulaire qui servira à l'injection de B.S.P.

Une canule avec robinet est introduite dans l'artère carotide et servira aux prélèvements de sang. Avant de placer les canules dans les vaisseaux, on adapte un cathéter au canal cholédoque. L'animal est réchauffé pendant toute l'expérience.

La B.S.P est injectée à la dose de 15 mg/kg. Des échantillons de sang (0,2 ml) sont prélevés sur héparine. La bile est recueillie dans un tube contenant 3 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium N/10.



Le dosage de la B.S.P. est effectué sur 20 microlitres de plasma, ou un volume adéquat de bile, après dilution aqueuse et alcalinisation par une solution d'hydroxyde de sodium en quantité convenable pour obtenir une coloration lisible dans la longueur d'onde de 580 nm.

## MODE D'EXPRESSION DES RESULTATS

A quelques exceptions près, les résultats sont exprimés par la moyenne et l'écart-type de la moyenne. Ce mode d'expression est utilisé pour caractériser la dispersion des résultats, même lorsque le nombre des valeurs observées est très faible, ceci afin d'éviter de surcharger de chiffres les tableaux. Il n'est pas utilisé, cependant, quand la dispersion des résultats est, de toute évidence, anormale

$\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$      $\frac{1}{2} \times \frac{1}{3} = \frac{1}{6}$      $\frac{1}{2} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{8}$      $\frac{1}{2} \times \frac{1}{5} = \frac{1}{10}$      $\frac{1}{2} \times \frac{1}{6} = \frac{1}{12}$

# ACTION DE LA FLORE MICROBIENNE AU NIVEAU DU TRACTUS DIGESTIF

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100. 101. 102. 103. 104. 105. 106. 107. 108. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120. 121. 122. 123. 124. 125. 126. 127. 128. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137. 138. 139. 140. 141. 142. 143. 144. 145. 146. 147. 148. 149. 150. 151. 152. 153. 154. 155. 156. 157. 158. 159. 160. 161. 162. 163. 164. 165. 166. 167. 168. 169. 170. 171. 172. 173. 174. 175. 176. 177. 178. 179. 180. 181. 182. 183. 184. 185. 186. 187. 188. 189. 190. 191. 192. 193. 194. 195. 196. 197. 198. 199. 200. 201. 202. 203. 204. 205. 206. 207. 208. 209. 210. 211. 212. 213. 214. 215. 216. 217. 218. 219. 220. 221. 222. 223. 224. 225. 226. 227. 228. 229. 230. 231. 232. 233. 234. 235. 236. 237. 238. 239. 240. 241. 242. 243. 244. 245. 246. 247. 248. 249. 250. 251. 252. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259. 260. 261. 262. 263. 264. 265. 266. 267. 268. 269. 270. 271. 272. 273. 274. 275. 276. 277. 278. 279. 280. 281. 282. 283. 284. 285. 286. 287. 288. 289. 290. 291. 292. 293. 294. 295. 296. 297. 298. 299. 300. 301. 302. 303. 304. 305. 306. 307. 308. 309. 310. 311. 312. 313. 314. 315. 316. 317. 318. 319. 320. 321. 322. 323. 324. 325. 326. 327. 328. 329. 330. 331. 332. 333. 334. 335. 336. 337. 338. 339. 340. 341. 342. 343. 344. 345. 346. 347. 348. 349. 350. 351. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 358. 359. 360. 361. 362. 363. 364. 365. 366. 367. 368. 369. 370. 371. 372. 373. 374. 375. 376. 377. 378. 379. 380. 381. 382. 383. 384. 385. 386. 387. 388. 389. 390. 391. 392. 393. 394. 395. 396. 397. 398. 399. 400. 401. 402. 403. 404. 405. 406. 407. 408. 409. 410. 411. 412. 413. 414. 415. 416. 417. 418. 419. 420. 421. 422. 423. 424. 425. 426. 427. 428. 429. 430. 431. 432. 433. 434. 435. 436. 437. 438. 439. 440. 441. 442. 443. 444. 445. 446. 447. 448. 449. 450. 451. 452. 453. 454. 455. 456. 457. 458. 459. 460. 461. 462. 463. 464. 465. 466. 467. 468. 469. 470. 471. 472. 473. 474. 475. 476. 477. 478. 479. 480. 481. 482. 483. 484. 485. 486. 487. 488. 489. 490. 491. 492. 493. 494. 495. 496. 497. 498. 499. 500. 501. 502. 503. 504. 505. 506. 507. 508. 509. 510. 511. 512. 513. 514. 515. 516. 517. 518. 519. 520. 521. 522. 523. 524. 525. 526. 527. 528. 529. 530. 531. 532. 533. 534. 535. 536. 537. 538. 539. 540. 541. 542. 543. 544. 545. 546. 547. 548. 549. 550. 551. 552. 553. 554. 555. 556. 557. 558. 559. 560. 561. 562. 563. 564. 565. 566. 567. 568. 569. 570. 571. 572. 573. 574. 575. 576. 577. 578. 579. 580. 581. 582. 583. 584. 585. 586. 587. 588. 589. 590. 591. 592. 593. 594. 595. 596. 597. 598. 599. 600. 601. 602. 603. 604. 605. 606. 607. 608. 609. 610. 611. 612. 613. 614. 615. 616. 617. 618. 619. 620. 621. 622. 623. 624. 625. 626. 627. 628. 629. 630. 631. 632. 633. 634. 635. 636. 637. 638. 639. 640. 641. 642. 643. 644. 645. 646. 647. 648. 649. 650. 651. 652. 653. 654. 655. 656. 657. 658. 659. 660. 661. 662. 663. 664. 665. 666. 667. 668. 669. 670. 671. 672. 673. 674. 675. 676. 677. 678. 679. 680. 681. 682. 683. 684. 685. 686. 687. 688. 689. 690. 691. 692. 693. 694. 695. 696. 697. 698. 699. 700. 701. 702. 703. 704. 705. 706. 707. 708. 709. 710. 711. 712. 713. 714. 715. 716. 717. 718. 719. 720. 721. 722. 723. 724. 725. 726. 727. 728. 729. 730. 731. 732. 733. 734. 735. 736. 737. 738. 739. 740. 741. 742. 743. 744. 745. 746. 747. 748. 749. 750. 751. 752. 753. 754. 755. 756. 757. 758. 759. 760. 761. 762. 763. 764. 765. 766. 767. 768. 769. 770. 771. 772. 773. 774. 775. 776. 777. 778. 779. 780. 781. 782. 783. 784. 785. 786. 787. 788. 789. 790. 791. 792. 793. 794. 795. 796. 797. 798. 799. 800. 801. 802. 803. 804. 805. 806. 807. 808. 809. 810. 811. 812. 813. 814. 815. 816. 817. 818. 819. 820. 821. 822. 823. 824. 825. 826. 827. 828. 829. 830. 831. 832. 833. 834. 835. 836. 837. 838. 839. 840.

## HYPERTROPHIE DU CAECUM DU RAT AXENIQUE

Les buts de cette étude sont les suivants :

- (1) - Déterminer une relation entre le poids vif du rat et le poids du caecum.
- (2) - Obtenir une réduction durable et complète du caecum au moyen d'un nombre minimum de souches bactériennes.
- (3) - Analyser comparativement les contenus caecaux des rats axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques à caecum réduit et mesurer la teneur en eau, en hexosamines, la concentration du sodium, du potassium et du chlore. On se propose ainsi de distinguer ceux de ces constituants qui sont liés à la réduction du caecum.

## RELATION ENTRE LE POIDS DU CAECUM ET LE POIDS VIF

Cette relation est étudiée chez des rats de race C.F. qui reçoivent le régime alimentaire D.P., et chez des rats Fischer qui reçoivent, soit le régime D.P., soit le régime S.N.

Le poids du caecum et le poids du rat sont liés d'une façon significative ( $p < 0,01$ ) et en première approximation, cette liaison est linéaire dans les limites de poids étudiés.

Le tableau XII rapporte les équations des droites de régres-





TABEAU XII - Relation entre le poids du caecum et le poids vif du rat en fonction du régime alimentaire et de la présence ou de l'absence de flore

| Régime alimentaire | Race    | Etat microbien | n  | Equation de la droite de régression | Zones de poids étudiées | n° de la ligne correspondante de la figure 3 |
|--------------------|---------|----------------|----|-------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------|
| D.P.               | C.F.    | Holoxénique    | 46 | $C = 3,1 + 0,0096 \cdot P$          | 100 <P< 450             | 1                                            |
|                    |         | Axénique       | 31 | $C = 5,6 + 0,031 \cdot P$           | 100 <P< 450             | 2                                            |
|                    | Fischer | Holoxénique    | 20 | $C = 0,65 + 0,017 \cdot P$          | 135 <P< 330             | 3                                            |
|                    |         | Axénique       | 18 | $C = 7,00 + 0,083 \cdot P$          | 140 <P< 373             | 4                                            |
| S.N.               | Fischer | Holoxénique    | 16 | $C = 1,00 + 0,010 \cdot P$          | 152 <P< 325             | 5                                            |
|                    |         | Axénique       | 17 | $C = 3,30 + 0,075 \cdot P$          | 149 <P< 390             | 6                                            |

n = nombre d'animaux observés      C = poids du caecum frais en g      P = poids vif du rat en g



sion, les zones de poids étudiées chez des rats Fischer et C.F. holoxéniques et axéniques. La figure 3 représente les valeurs individuelles et les droites de régression.

Si pour des rats de même poids, on considère le rapport :

$$R = \frac{\text{Poids du caecum du rat axénique}}{\text{Poids du caecum du rat holoxénique}}$$

Chez les rats C.F. nourris avec le régime D.P., lorsque P varie de 140 g à 330 g, ce rapport reste compris entre 2,34 et 2,54.

Chez les rats Fischer nourris avec le même régime, lorsque P varie de 140 g à 330 g, ce rapport reste compris entre 6,15 et 5,47.

Le rat Fischer est donc un animal expérimental plus intéressant que le rat C.F. pour l'étude de ce phénomène.

Chez les rats Fischer soumis au régime S.N., lorsque P varie de 140 g à 330 g, le rapport R reste compris entre 5,75 et 6,52, valeurs voisines de celles observées avec le régime D.P. Cependant, la figure 3 montre que le poids des caecums est nettement plus élevé chez les sujets qui reçoivent le régime D.P. que chez ceux qui reçoivent le régime S.N.

Le régime alimentaire a donc une influence considérable sur la taille du caecum, aussi bien chez l'axénique que chez l'holoxénique.

## REDUCTION DU CAECUM DES RATS AXENIQUES A L'AIDE DE SOUCHES DE BACTERIES ISOLEES DU CAECUM DES RATS HOLOXENIQUES

### Protocole expérimental

Cette étude est conduite dans le but d'obtenir une réduction totale et durable du caecum avec un nombre minimum de souches bactériennes. Elle est faite avec des rats de race Fischer puisque ceux-ci possèdent à l'état axénique un caecum particulièrement important. Elle donne lieu à trois types d'expérience. Les expériences de type B sont des expériences faites selon la technique des bocaliers (voir p. 8), par conséquent de courte durée ; les sujets sont sacrifiés et examinés sept jours après l'ensemencement des souches. Les deux autres types d'expérience sont faits en isolateurs : les expériences de type S.C. sont des expériences dans lesquelles l'ensemencement est fait par sonde (p. 8), mais qui sont de courte durée : sept à dix jours ; les expériences de type S.L. sont des expériences où l'ensemencement est fait à la sonde mais de durée longue : plusieurs mois. Les difficultés rencontrées dans l'établissement des bactéries dans le tractus digestif des sujets axéniques qui reçoivent le régime S.N. nous ont amené à faire une partie de ces expériences chez des sujets qui reçoivent l'aliment D.P. Ces essais sont faits



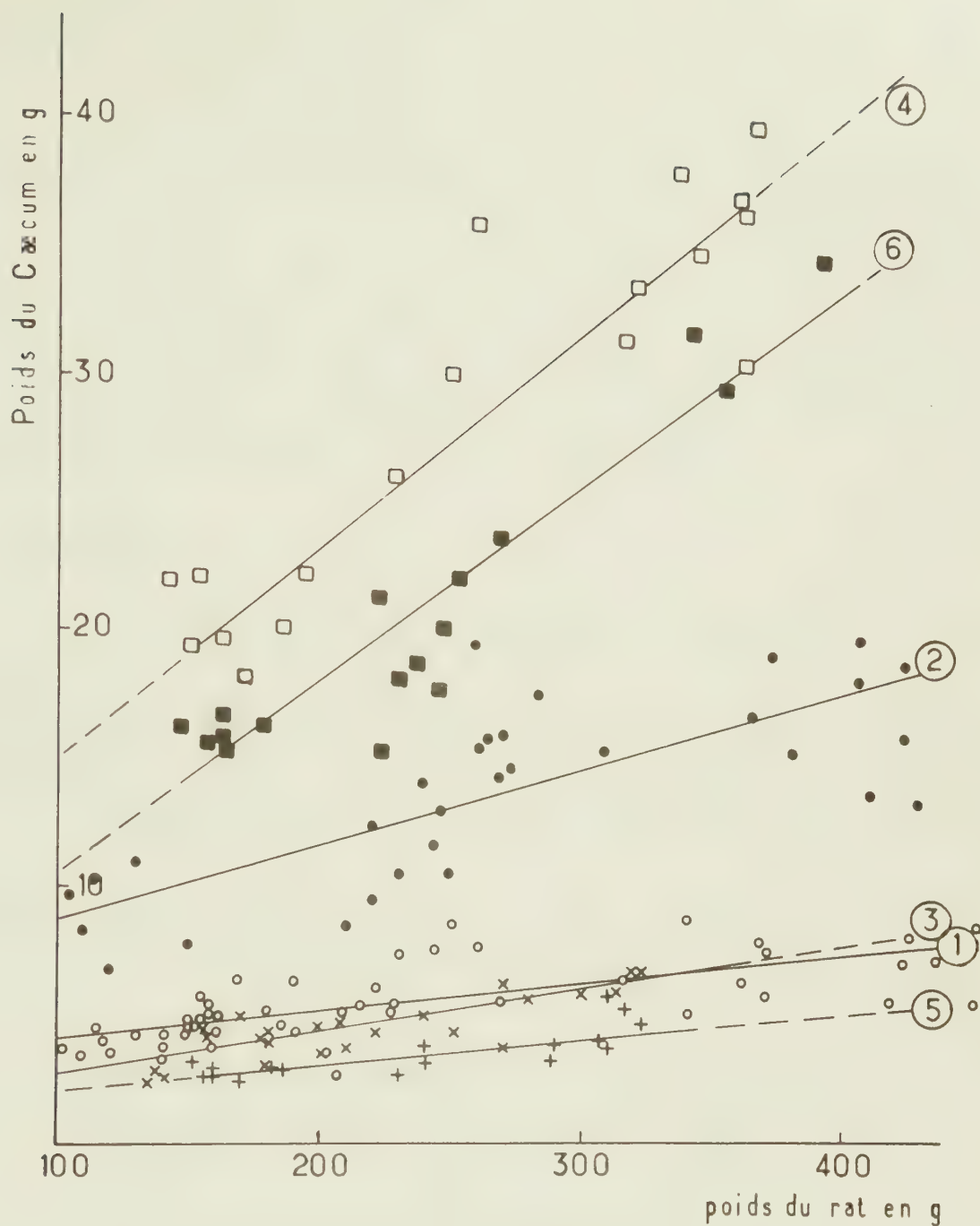


Fig. 3 - Poids du Cæcum en fonction du Poids du Rat

- ① ○ CF holoxénique aliment D.P
- ② ● " axénique " " "
- ③ × Fischer holoxénique " "
- ④ □ " " axénique " " "
- ⑤ + " " holoxénique aliment S.N
- ⑥ ■ " " axénique " " "





sur un très petit nombre de sujets, et souvent sur un seul. Ceci se justifie par les considérations suivantes : 1 ) - le poids du caecum des sujets axéniques diffère de celui des sujets holoxéniques par un facteur cinq. 2 ) - dans les essais où plusieurs sujets reçoivent un même inoculum , les poids du caecum ont des valeurs très homogènes. Enfin, les poids du caecum sont exprimés en fonction du rat selon la formule 
$$S = \frac{\text{Poids du caecum}}{\text{Poids vif du rat}} \times 100$$

Les équations du tableau XII montrent que le poids du caecum n'est pas rigoureusement proportionnel au poids du rat, pour un état microbien défini. Aussi les sujets sont-ils choisis d'un poids compris entre 150 et 250 grammes : l'erreur maximum sur le rapport est ainsi limitée à 0,80 chez les sujets axéniques et à 0,26 chez les sujets holoxéniques.

### Résultats

L'action des souches bactériennes sur la réduction du caecum apparaît dans le tableau XIII. Les valeurs du rapport :

$\frac{\text{poids du caecum}}{\text{poids vif du rat}} \times 100$  chez les sujets gnotoxéniques sont à comparer avec les valeurs de ce rapport, d'une part chez les rats axéniques, d'autre part chez les rats holoxéniques, valeurs qui sont présentées dans le tableau XIV.

TABLEAU XIV - Poids du caecum pour 100 g du poids vif . (moyenne  $\pm$  écart type de la moyenne)

| Régime      | S.N.                      | D.P.                        |
|-------------|---------------------------|-----------------------------|
| Axénique    | 9,1 $\pm$ 0,36<br>(n = 9) | 10,9 $\pm$ 0,53<br>(n = 12) |
| Holoxénique | 1,6 $\pm$ 0,09<br>(n = 8) | 2,0 $\pm$ 0,15<br>(n = 12)  |

n = nombre de sujets

Cette comparaison permet de distinguer les faits suivants :

1 - Très peu de souches ont une action sur le poids du caecum quand on les implante seules (état monoxénique). Chez les rats qui reçoivent le régime S.N., seule la souche 15 provoque une réduction partielle du caecum. Cette souche n'a aucune action chez les rats qui reçoivent le régime D.P. Chez ces derniers les souches 14 et 26 diminuent certainement le poids du caecum, les souches 2 et 23 ont peut-être une légère action; les huit autres



souches n'en ont certainement aucune. Nous appellerons souches actives les souches qui, à l'état monoxénique diminuent le poids du caecum, et souches inactives celles qui ne le diminuent pas.

2 - La réduction du caecum que produisent les souches actives est relativement faible : par rapport à l'axénique, elle est de 24 % pour la souche 14, 31 % pour la souche 26, dans le cas du régime D.P. ; 30 % pour la souche 15 dans le cas du régime S.N.

3 - L'association de deux souches donnent des résultats qui sont imprévisibles. Dans le cas du régime S.N., les deux souches inactives 2 et 17 réduisent le caecum de 45 % quand elles sont associées. Au contraire, l'association des souches actives 14 et 26 n'augmente pas leur activité chez les rats qui reçoivent le régime D.P. Chez les sujets qui reçoivent ce régime les combinaisons des souches 14, 15, 26 et 28 sont étudiées : la souche inactive 28 tend à augmenter l'activité de toutes les combinaisons dans lesquelles elle est introduite : 14, 15, 14 + 15, 14 + 26, 15 + 26, 14 + 15 + 26 . De même la souche 15, qui dans le cas de ce régime est inactive, augmente l'action de 26, 26 + 28, 14 + 26 + 28, mais n'augmente pas l'activité de la souche 14. L'examen du tableau VI montre que dans le cas de ces souches, la réduction partielle du caecum peut s'expliquer par l'importance de leur prolifération dans cet organe. Les souches 15 et 28 sont légèrement plus actives quand elles sont réunies que quand elles sont seules : or, la souche 15 est alors quarante fois plus abondante que lorsqu'elle est seule. Cette souche existe en quantité abondante, de l'ordre de  $10^9$  cellules vivantes par gramme d'organe dans les trois combinaisons les plus actives. Surtout, la multiplication de la souche 26 est inhibée par la souche 14. Cette inhibition est moindre en présence de la souche 15, et complètement abolie par la souche 28.

Enfin, l'association de souches inactives peut demeurer inactive : c'est le cas des souches 16, 22, 23, 24 qui demeurent inactives quand elles sont réunies, et le mélange 16 + 22 + 23 + 24 ne modifie pas l'activité du mélange 14 + 15 + 26 + 28.

4 - L'influence qu'exerce le régime alimentaire sur le volume du caecum, influence déjà observée chez les rats axéniques et chez les rats holoxéniques (Tableaux XII, fig. 3, Tableau XIV), s'observe aussi chez les rats gnotoxéniques. Elle est particulièrement importante chez les rats monoxéniques qui sont associés à la souche 15 (§ 1). Cette influence se fait aussi sentir chez les sujets qui reçoivent les combinaisons les plus actives : le caecum des rats gnotoxéniques qui ont reçu le mélange 14+15+26+28, pèse respectivement, 1,7 et 2,4 fois le poids du caecum des rats holoxéniques dans le cas du régime S.N. et dans le cas du régime D.P.





TABLERAU XIII - Action des souches microbiennes sur le développement du caecum et sur le poids sec du contenu caecal des rats Fischer.

| 1 - Rats nourris à l'aide du régime S.N.   |                                             |                                                           |                          |                |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------|----------------|
| Inoculum                                   | Poids du caecum pour 100 g de poids vif (1) | Poids sec du contenu caecal pour 100 g de poids frais (1) | Type d'expé - rience (2) | Nombre de rats |
| 2                                          | 11,7 $\pm$ 0,25                             |                                                           | B                        | 4              |
| 6                                          | 9,0 $\pm$ 0,88                              | 20,1 $\pm$ 0,27                                           | B                        | 4              |
| 7                                          | 16,5 $\pm$ 0,69                             | 20,3 $\pm$ 0,67                                           | B                        | 3              |
| 15                                         | 6,3 $\pm$ 0,24                              | 23,5 $\pm$ 0,54                                           | SC                       | 5              |
| 17                                         | 8,5 $\pm$ 0,37                              | 20,9 $\pm$ 0,07                                           | SC                       | 6              |
| 19                                         | 10,0 $\pm$ 0,21                             | 19,6 $\pm$ 0,53                                           | B                        | 4              |
| 22                                         | 9,0 $\pm$ 0,50                              | 22,1 $\pm$ 0,37                                           | B                        | 4              |
| 27                                         | 9,0 $\pm$ 0,66                              | 19,1 $\pm$ 0,77                                           | B                        | 4              |
| 2 + 17                                     | 5,1 $\pm$ 0,14                              | 25,0 $\pm$ 0,82                                           | B                        | 4              |
| 7 + 6                                      | 8,1 $\pm$ 0,15                              | 22,9 $\pm$ 0,42                                           | SC                       | 6              |
| 14 + 15 + 28                               | 4,5 $\pm$ 0,3                               | 22,0 $\pm$ 0,40                                           |                          | 5              |
| 2 + 6 + 7 + 17                             | 5,0 $\pm$ 0,30                              | 23,6 $\pm$ 0,34                                           | SC                       | 8              |
| 14 + 15 + 26 + 28                          | 2,8 $\pm$ 0,2                               | 23,4 $\pm$ 0,50                                           |                          | 4              |
| 1+3+21+25+27+28                            | 6,0 $\pm$ 0,82                              | 23,4                                                      | B                        | 4              |
| 1+2+4 à 12 + 15 à 18 +21+22+24+25+ 27 à 30 | 2,1                                         | 23,7                                                      | SC                       | 3              |
|                                            | 2,2 $\pm$ 0,11                              | 22,6 $\pm$ 0,32                                           | SL (3)                   | 7              |

(1) - moyenne  $\pm$  écart type de la moyenne

(2) - voir texte

(3) - deuxième génération



| 2 - Rats nourris à l'aide du régime D.P. |                                                   |                                                                    |                                   |                      |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| Inoculum                                 | Poids du caecum<br>pour 100 g de<br>poids vif (1) | Poids sec du<br>contenu caecal<br>pour 100 g de<br>poids frais (1) | Type d'<br>expé-<br>rience<br>(2) | Nombre<br>de<br>rats |
| 2                                        | 9,1                                               |                                                                    | B                                 | 1                    |
| 7                                        | 14,4                                              |                                                                    | B                                 | 1                    |
| 14                                       | 8,2 $\pm$ 0,53                                    | 18,4 $\pm$ 0,13                                                    | SC                                | 7                    |
| 15                                       | 10,2                                              | 17,9                                                               | B                                 | 2                    |
| 16                                       | 13,6                                              | 17,8                                                               | B                                 | 1                    |
| 17                                       | 11,8                                              | 17,8                                                               | B                                 | 2                    |
| 19                                       | 16,1                                              | 17,5                                                               | B                                 | 1                    |
| 22                                       | 12,3                                              | 17,8                                                               | B                                 | 2                    |
| 23                                       | 8,9                                               | 18,5                                                               | B                                 | 3                    |
| 24                                       | 12,9                                              | 17,3                                                               | B                                 | 1                    |
| 26                                       | 7,5 $\pm$ 0,25                                    | 19,3 $\pm$ 0,20                                                    | SC                                | 8                    |
| 28                                       | 11,0                                              | 17,3                                                               | B                                 | 2                    |
| 14 + 15                                  | 8,7                                               | 19,0                                                               | B                                 | 1                    |
| 14 + 26                                  | 7,8                                               | 19,6                                                               | B                                 | 1                    |
| 14 + 28                                  | 7,8                                               | 18,1                                                               | B                                 | 2                    |
| 15 + 26                                  | 6,4                                               | 20,5                                                               | B                                 | 1                    |
| 15 + 28                                  | 8,5                                               | 19,0                                                               | B                                 | 1                    |
| 26 + 28                                  | 7,5                                               | 20,1                                                               | B                                 | 1                    |
| 14 + 15 + 26                             | 7,4                                               | 20,1                                                               | B                                 | 1                    |
| 14 + 15 + 28                             | 6,4                                               | 19,0                                                               | B                                 | 1                    |
| 14 + 26 + 28                             | 6,6                                               | 19,9                                                               | B                                 | 1                    |
| 15 + 26 + 28                             | 5,4 $\pm$ 0,28                                    | 20,1 $\pm$ 0,40                                                    | SC                                | 6                    |
| 14+15+26+28                              | 4,8                                               | 20,9                                                               | B                                 | 1                    |
| 16+22+23+24                              | 11,6                                              | 18,2                                                               | B                                 | 1                    |
| 14+15+16+22+23+24+<br>26 + 28            | 4,8 $\pm$ 0,42                                    | 20,5 $\pm$ 0,21                                                    | SC                                | 8                    |
| 1 à 9 + 11 + 21+25<br>+ 26 + 30          | 5,28 $\pm$ 0,12                                   | 17,1 $\pm$ 0,46                                                    | SC                                | 4                    |



5 - Un mélange de 23 souches détermine, chez les rats qui reçoivent le régime S.N., une réduction du caecum qui est telle que le poids de cet organe n'est plus que 1,3 fois le poids du caecum des rats holoxéniques (dernière ligne du tableau). Cette réduction se maintient d'une génération à une autre. Nous désignerons ces rats gnotoxéniques par la lettre R.

## MODIFICATIONS DU CONTENU CAECAL SOUS L'ACTION DE LA FLORE MICROBIENNE - COMPARAISON DES RATS AXENIQUES, HOLOXENIQUES ET GNOTOXENIQUES

1 - Teneur en eau du caecum - La teneur en eau du caecum varie peu en fonction de la race du rat : le poids sec du contenu n'est pas significativement différent chez les rats C.F. et chez les rats Fischer holoxéniques (Tableau XV); il est peu différent chez les rats C.F. et chez les rats Fischer axéniques, qui reçoivent le régime D.P. Par contre, la flore microbienne joue un rôle important : chez les sujets holoxéniques, le poids sec est plus élevé que chez les sujets axéniques. Le régime alimentaire exerce aussi une influence; chez les rats Fischer axéniques qui reçoivent le régime D.P., le poids sec du contenu caecal est plus faible que chez ceux qui reçoivent le régime S.N. et la différence est importante. Chez les rats Fischer holoxéniques, il n'existe pas de différence significative en fonction de ces régimes.

Chez les rats gnotoxéniques, les valeurs du poids sec sont présentées dans le tableau XIII. Si on considère l'ensemble de ces valeurs chez les rats gnotoxéniques qui reçoivent les deux régimes alimentaires, il n'apparaît pas de liaison entre la valeur du poids sec du contenu caecal et le poids du caecum. On remarque, en particulier, que chez les rats axéniques qui reçoivent le régime S.N., le poids sec du contenu caecal est plus élevé que chez les rats gnotoxéniques qui reçoivent le régime D.P., qui ont reçu le mélange 14 + 15 + 26 + 28 et dont le caecum est deux fois moins lourd. Les rats gnotoxéniques qui ont reçu la souche 15 et qui reçoivent le régime S.N., ont un poids sec égal à celui des holoxéniques, mais leur caecum demeure quatre fois plus lourd.....

Cependant, chez tous les sujets dont le caecum est tel que le rapport  $\frac{\text{Poids du caecum}}{\text{Poids vif du rat}} \times 100$  est inférieur ou égal à 2,2, c'est à dire chez les rats holoxéniques et chez les rats gnotoxéniques R, le poids sec du contenu caecal est supérieur ou égal à 22,6 pour 100 du poids frais.

L'ensemble de ces faits suggèrent qu'une faible teneur en eau du contenu caecal est peut-être nécessairement liée à une réduction durable et importante du caecum, mais que ce n'est certainement pas une condition suffisante à cette réduction et que d'autres facteurs plus importants sont en cause.





TABLEAU XV - Influence de la race et du régime alimentaire sur le poids sec du contenu caecal chez les rats axéniques et holoxéniques.  
Poids sec pour 100 g de poids frais du contenu caecal.  
(moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne).

| Race    | Régime | Axénique                  | Holoxénique               |
|---------|--------|---------------------------|---------------------------|
| C F     | D.P.   | 16,6 $\pm$ 0,22<br>n = 19 | 22,9 $\pm$ 0,26<br>n = 45 |
| Fischer | D.P.   | 17,3 $\pm$ 0,12<br>n = 19 | 23,0 $\pm$ 0,36<br>n = 19 |
|         | S.N.   | 21,9 $\pm$ 0,61<br>n = 9  | 23,4 $\pm$ 0,55<br>n = 8  |

n = nombre de sujets



## 2 - Concentration des minéraux et teneur en hexosamines du caecum -

Ces dosages portent sur les contenus caecaux des rats Fischer axéniques et holoxéniques nourris, soit à l'aide du régime D.P., soit à l'aide du régime S.N., ainsi que sur les rats gnotoxéniques R nourris au régime S.N. dont le caecum est presque complètement réduit. Les résultats observés sont rapportés dans le tableau XVI.

Teneur du caecum en hexosamines - Nous retrouvons les différences observées par LINDSTEDT et coll., entre axéniques et holoxéniques : la teneur en hexosamines des caecum est environ deux fois plus élevée chez les animaux axéniques que chez les animaux holoxéniques.

Chez les rats gnotoxéniques R à caecum réduit, les teneurs en hexosamines sont très proches de celles des axéniques.

Il apparaît que l'hypothèse de LINDSTEDT n'est pas vérifiée chez ces animaux gnotoxéniques; nous avons, en effet, obtenu une réduction du caecum sans pour cela observer de diminution dans la teneur en hexosamines. La diminution de la teneur en hexosamines du caecum ne semble pas nécessairement liée à la réduction du caecum des rats axéniques.

Concentration du sodium - Avec le régime D.P. on n'observe pas de nette différence entre rats axéniques et holoxéniques quant à la teneur en sodium du contenu caecal.

Avec le régime S.N. la concentration en sodium du contenu caecal des rats holoxéniques et gnotoxéniques R est légèrement supérieure à celle des animaux axéniques et à la concentration observée chez les rats au régime D.P. Ce résultat est à rapprocher du fait que le régime S.N. est environ trois fois plus riche en sodium que le régime D.P. : il contient 2,9 mg de sodium par gramme d'aliment, alors que le régime S.N. contient 8,6 mg par gramme.

On peut cependant affirmer que la concentration du sodium ne joue pas un rôle primordial dans le mécanisme de la réduction du caecum, puisqu'avec le régime D.P. on n'observe pas de différence significative entre les rats axéniques et les rats holoxéniques.

Dans nos conditions expérimentales, nous ne retrouvons pas les différences observées par ASANO et il n'y a aucune corrélation entre la réduction du caecum et l'accroissement de la concentration du sodium.





Concentration du potassium - L'aliment D.P. contient 9,5 milligrammes de potassium par gramme, l'aliment S.N. en contient 4,0 milligrammes par gramme.

Aussi bien avec le régime D.P. qu'avec le régime S.N., la concentration du potassium dans le caecum est deux à trois fois plus grande chez les animaux holoxéniques que chez les animaux axéniques. Mais chez les sujets gnotoxéniques R dont le caecum est réduit, la teneur en potassium n'est pas différente de ce qu'elle est chez les axéniques. Une augmentation de la teneur en potassium n'est donc pas nécessaire à la réduction du caecum.

Concentration du chlore - Les concentrations du chlore dans le caecum des rats holoxéniques et gnotoxéniques R sont respectivement cinq et six fois plus grandes que dans le caecum des rats axéniques. On ne peut donc pas écarter l'hypothèse d'ASANO, selon laquelle la concentration du chlore joue un rôle essentiel dans le processus de réduction du caecum.

#### - C O N C L U S I O N S -

1 - Il existe une relation linéaire entre le poids du caecum et le poids vif du rat dont les paramètres varient en fonction du régime alimentaire, de la flore microbienne et de la race.

2 - Il apparaît difficile d'obtenir une réduction complète et durable du caecum des rats axéniques en ensemençant ceux-ci avec un petit nombre de souches bactériennes.

3 - La teneur en eau du caecum varie en fonction du régime alimentaire et de la flore microbienne. Elle varie peu en fonction de la race. La diminution de la teneur en eau n'est pas une condition suffisante pour obtenir une réduction complète et durable du caecum de l'axénique.

4 - La diminution de la teneur en hexosamines, l'augmentation de la concentration du sodium et du potassium ne sont pas des conditions nécessaires de la réduction du caecum de l'axénique. Il est possible que le chlore joue un rôle spécifique dans le processus de réduction du caecum.



**TABEAU XVI** - Concentration du sodium, du potassium et du chlore, teneur en hexosamines du contenu caecal des rats en fonction de la flore microbienne et du régime alimentaire.

| Element                                     | Régime | Axénique                  | Holoxénique              | Gnotoxénique R            |
|---------------------------------------------|--------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Sodium<br>(milliéquivalent<br>par litre)    | D.P.   | 60,7 $\pm$ 5,0<br>n = 12  | 50,8 $\pm$ 3,5<br>n = 12 |                           |
|                                             | S.N.   | 69,5 $\pm$ 4,6<br>n = 9   | 87,7 $\pm$ 1,6<br>n = 8  | 92,4 $\pm$ 2,8<br>n = 7   |
| Potassium<br>milliéquivalent<br>par litre)  | D.P.   | 11,7 $\pm$ 0,5<br>n = 12  | 35,9 $\pm$ 1,2<br>n = 12 |                           |
|                                             | S.N.   | 14,2 $\pm$ 1,0<br>n = 9   | 30,4 $\pm$ 2,2<br>n = 8  | 14,3 $\pm$ 0,8<br>n = 7   |
| Chlore<br>(milliéquivalent<br>par litre     | S.N.   | 2,3 $\pm$ 0,5<br>n = 5    | 11,5 $\pm$ 0,5<br>n = 8  | 14,0 $\pm$ 0,4<br>n = 7   |
| Hexosamines<br>(milligrammes<br>par gramme) | S.N.   | 12,48 $\pm$ 0,40<br>n = 7 | 6,92 $\pm$ 0,36<br>n = 7 | 11,05 $\pm$ 0,19<br>n = 7 |



## ETUDE DE LA VITESSE DE RENOUVELLEMENT DES ENTEROCYTES

Cette étude est faite dans les buts suivants :

- 1 - Connaître si les observations faites par ABRAMS et coll. (1), par LESHER et coll. (121), chez la souris, à savoir que la microflore du tube digestif accélère la cinétique de remplacement des cellules intestinales se retrouvent chez le rat.
- 2 - Compléter ces données en faisant ces observations, non pas en un seul point du tractus digestif, comme l'ont fait ces auteurs, mais simultanément au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléon.
- 3 - Déterminer si les différences observées relèvent de "l'anomalie caecale", en comparant le rat axénique caecectomisé au rat axénique témoin.
- 4 - Déterminer si la prolifération bactérienne créée par la formation d'une anse aveugle jéjunale chez le rat holoxénique exerce une influence sur la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal.

### Protocole expérimental

Cette étude est conduite en tenant compte du fait que la vitesse de renouvellement des entérocytes peut être influencée par l'âge (115, 192), ou le régime alimentaire (23).

- Tous les sujets reçoivent le régime S.N. et ont le même âge (3 mois et demi)

- La comparaison porte d'abord sur 12 rats axéniques et 6 rats holoxéniques; elle est faite par les deux méthodes de mesure : marquage à la thymidine tritiée, mesure de l'index mitotique.

- Elle porte ensuite sur sept rats axéniques caecectomisés comparés à cinq rats axéniques témoins, et enfin sur sept rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle comparés, d'une part à cinq rats holoxéniques témoins et d'autre part, à sept rats axéniques porteurs d'une anse aveugle.

- Ces deux dernières déterminations sont faites uniquement par la méthode de marquage à la thymidine tritiée.

### Résultats

1° - Chez les rats axéniques, la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal est plus faible que chez les rats holoxéniques

Index mitotique - Cet index est déterminé simultanément au niveau du duodénum et de l'iléon. Les résultats sont donnés dans le tableau XVII . Il appa-





rait que cet index a la même valeur au niveau de ces deux segments intestinaux.

TABEAU XVII - Valeur de l'index mitotique au niveau du duodénum et de l'iléon des rats axéniques et holoxéniques.

| Segment intestinal                | Duodénum |             | Iléon    |             |
|-----------------------------------|----------|-------------|----------|-------------|
| Type de rats                      | Axénique | Holoxénique | Axénique | Holoxénique |
| Nombre de cellules en mitose      | 65       | 117         | 27       | 35          |
| Nombre total de cellules comptées | 2650     | 2884        | 1027     | 860         |
| Index mitotique (%)               | 2,48     | 4,04        | 2,6      | 4,1         |

Marquage à la thymidine tritiée - Le marquage des noyaux par la thymidine tritiée est étudié au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléon. La figure 4 rend compte de la vitesse de migration des cellules depuis le fond de la crypte jusqu'au sommet de la villosité. La progression n'est mesurée qu'à partir du collet et pour cette raison les droites ne partent pas de l'origine. Dans chaque catégorie d'animaux, la droite qui représente la migration des noyaux marqués au niveau du duodénum se superpose à celle qui représente cette migration au niveau du jéjunum; elle diffère sensiblement de la droite qui représente la migration au niveau de l'iléon, alors que l'index mitotique au niveau du duodénum et au niveau de l'iléon est peu différent. Ceci est sans doute en rapport avec une légère différence de la longueur des villosités dans ces deux régions de l'intestin grêle.

Les valeurs des index mitotiques représentées dans le tableau sont, chez les rats axéniques, 37 à 39 % plus faibles que chez les rats holoxéniques. Cela revient à dire que les cryptes de Lieberkühn d'un animal holoxénique produisent 60 % de cellules en plus de ce que produisent normalement les cryptes de l'axénique. Dans ces conditions, comme le système à deux compartiments crypte-villosité est en équilibre dynamique stable (il naît autant de cellules qu'il en meurt), on peut logiquement s'attendre à observer un ralentissement du transit chez l'axénique, à condition que les populations cellulaires totales des deux compartiments soient équivalentes.



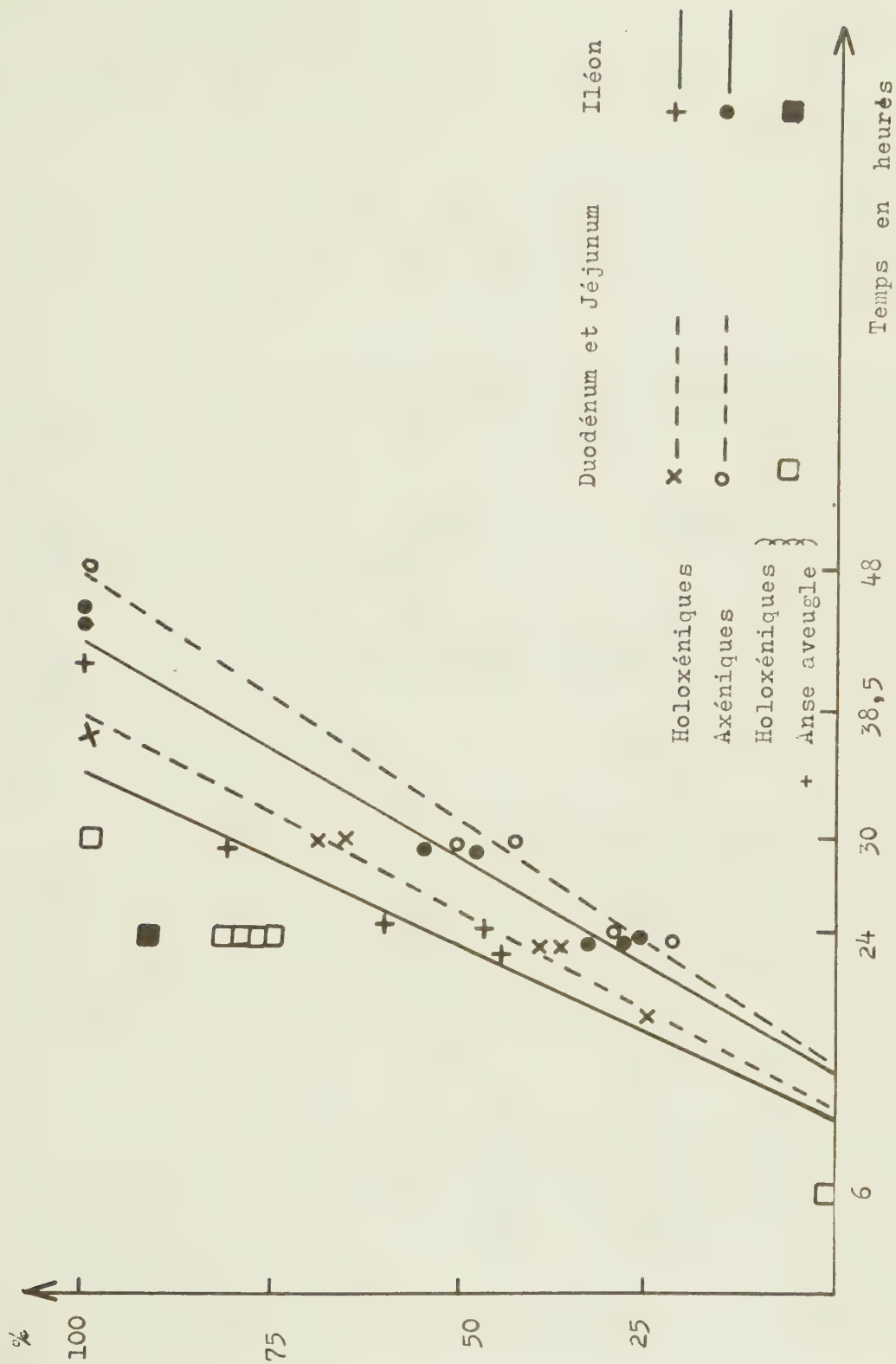


Fig. 4 - Renouvellement des entérocytes au niveau du duodénum et du jéjunum d'une part, de l'iléon d'autre part, chez des rats axéniques, holoxéniques, holoxéniques porteurs d'une anse aveugle. En ordonnée, pourcentage des noyaux marqués des entérocytes.





C'est bien ce que nous observons. Par contre, la différence de vitesse observée n'est pas exactement celle que permettait de prévoir la valeur de l'index mitotique : temps de migration du collet au sommet chez l'holoxénique : 23 h, temps de migration du collet au sommet chez l'axénique : 33 h, soit une vitesse supérieure de 43 % environ chez l'holoxénique.

Quoiqu'il en soit, il peut être affirmé que la présence de la flore microbienne au niveau du tractus gastro-intestinal des rats holoxéniques accélère la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal, et qu'elle l'accélère d'une manière semblable à tous les niveaux de l'intestin grêle.

2° - Chez les rats axéniques, la caeectomie détermine une altération de l'activité mitotique au niveau des cryptes de Lieberkühn.

Cette altération consiste en une multiplication irrégulière des cellules au niveau des cryptes. Cette multiplication se traduit sur les coupes par les images suivantes :

- les villosités sont de taille très irrégulière, à tous les niveaux de l'intestin grêle, mais surtout au niveau de l'iléon.

- deux villosités contigües apparaissent marquées d'une manière très différente.

- le pourcentage des noyaux qui apparaissent marqués au niveau d'une même villosité peut être très différent d'un côté à l'autre de celle-ci ; les villosités et les cryptes sont régulièrement alternées et assez souvent les deux flancs, qui appartiennent à des villosités différentes, mais qui sont nourries par une même crypte donnent une réponse équivalente, alors que la réponse varie d'une crypte à l'autre.

Les résultats deviennent irréguliers d'un sujet à l'autre.

Il est très difficile dans ces conditions de dire dans quelle mesure la vitesse de renouvellement de l'ensemble des entérocytes est accélérée. Ces réserves étant faites, il semble, comme cela apparaît dans le tableau XVIII, qu'il y ait :

- une accélération du transit des cellules entérocytiques au niveau du duodénum.

- une absence de modifications dans le jéjunum

- et peut-être un ralentissement au niveau de l'iléon.

3° - Chez les rats holoxéniques, la présence de l'anse aveugle s'accompagne d'une accélération de la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal

Le tableau XIX représente le pourcentage des noyaux des



TABLEAU XVIII - Comparaison entre les vitesses de renouvellement de l'épithélium intestinal chez des rats axéniques caeectomisés et chez des rats axéniques témoins.

| Temps en heures depuis l'injection | Hauteur du front de cellules marquées (en pour cent) |         |          |                   |         |       |  |
|------------------------------------|------------------------------------------------------|---------|----------|-------------------|---------|-------|--|
|                                    | Axéniques caeectomisés                               |         |          | Axéniques témoins |         |       |  |
|                                    | Duodénum                                             | Jéjunum | Iléon    | Duodénum          | Jéjunum | Iléon |  |
| 16 h 30                            | 10                                                   | 5       | -        | 8                 | 5       | -     |  |
|                                    | 20                                                   | 20      | 5        | -                 | -       | 20    |  |
| 23 h 30                            | 42                                                   | 25      | 5        | 27                | 20      | -     |  |
|                                    | 45                                                   | 25      | 7        | 27                | 25      | 32    |  |
| 41 h                               | 98                                                   | 75      | (45) (1) | 85                | 75      | -     |  |
|                                    | 98                                                   | 90      | 70       | -                 | -       | 85    |  |
| 48 h                               | 100                                                  | 100     | 100      | 100               | 95      | 100   |  |

(1) - Valeur moyenne provenant de valeurs très irrégulières (extrêmes 30-60)









villosités qui sont marqués par la thymidine chez les rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle et chez les deux sortes de témoins : rats holoxéniques non opérés, rats axéniques porteurs d'une anse aveugle. Si on compare les valeurs observées chez ces derniers avec les valeurs observées chez les rats axéniques non opérés qui sont présentées dans la figure 4 et le tableau XVIII, il apparaît que la formation d'une anse aveugle n'accélère pas la vitesse de renouvellement de l'épithélium. Au contraire, la lecture du tableau XIX montre que chez les rats holoxéniques la présence de l'anse aveugle détermine une augmentation très importante de cette vitesse au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléon. L'ensemble des faits permet de conclure que c'est la prolifération bactérienne, déterminée par la formation de l'anse aveugle chez le rat holoxénique, qui est à l'origine de cette accélération du renouvellement de l'épithélium.

#### - C O N C L U S I O N S -

1° - La flore microbienne du tractus digestif détermine une accélération de la vitesse du renouvellement de l'épithélium intestinal. Cette accélération a une valeur semblable au niveau du duodénum, du jéjunum et de l'iléon.

2° - Chez les rats axéniques, la caeectomie provoque une modification de la vitesse de renouvellement de l'épithélium qui est, en moyenne, accrue au niveau du duodénum, inchangée au niveau du jéjunum, ralentie au niveau de l'iléon. La caeectomie provoque donc des modifications différentes de celles qu'exerce la flore intestinale.

3° - La prolifération bactérienne créée par la formation de l'anse aveugle chez le rat holoxénique détermine une accélération très importante du transit des entérocytes.

#### ABSORPTION INTESTINALE

##### But de cette étude

Chez le rat axénique la surface de l'épithélium intestinal est réduite, la muqueuse contient moins d'eau, moins de tissu conjonctif, la lamina propria moins de cellules, la circulation sanguine est diminuée : ces différents caractères se traduisent-ils par une modification de l'absorption passive ? L'observation de HENEGHAN selon laquelle le d-xylose est mieux absorbé chez le rat et la souris axénique inclinerait à faire penser que la muqueuse de l'axénique est plus perméable.



Nous nous sommes proposé d'apprécier l'aptitude de la muqueuse à absorber certains acides qui sont réputés faire l'objet d'une absorption passive et qui, d'après BRODIE et HOGBEN (22), sont absorbés à des vitesses différentes selon leur pKa et la solubilité de leur forme non ionisée dans les lipides : le rouge de phénol (acide fort), l'acide salicylique (pKa = 3,0), l'acide acétylsalicylique (pKa = 3,5). Nous y joignons l'acide paraaminobenzoïque, dont l'absorption passive est vraisemblable, mais non certaine : l'acide benzoïque d'une part, la sulfanilamide, d'autre part, sont absorbées d'une manière passive (201). Nous y joignons aussi le d-xylose, qui est un pentose, très peu métabolisé par l'organisme, qui est absorbé d'une manière passive (176, 203), et dont l'absorption a déjà été étudiée par HENEGHAN (97).

### Protocole expérimental

Les intestins grêles de rats Lobund sont perfusés selon la technique de SCHANKER par des solutés dont la concentration est indiquée dans le tableau XX.

### Résultats

Les données expérimentales sont réunies dans le tableau XX. Il apparaît que, dans les conditions de cette expérience :

1° - aucune différence ne peut être mise en évidence en ce qui concerne le rouge de phénol, qui n'est pratiquement pas absorbé, ni l'acide salicylique, qui, au contraire, est remarquablement bien absorbé par les sujets des deux groupes, ni l'acide acétylsalicylique qui est moyennement absorbé. Le taux d'absorption de ces acides, chez les rats holoxéniques, est semblable à celui qu'observe SCHANKER (171).

2° - le d-xylose est mieux absorbé chez l'axénique.

3° - l'acide paraaminobenzoïque est apparemment moins bien absorbé chez l'axénique. La différence est significative ( $t = 3,00$   $p < 0,01$ ). L'acide paraaminobenzoïque est métabolisable par de nombreuses bactéries, pour lesquelles il est un facteur de croissance. Le lavage de l'intestin grêle qui précède la perfusion par le soluté, réduit certainement d'une manière très importante la population bactérienne de l'intestin grêle. Cependant, il n'est pas possible d'écarter l'éventualité qu'une fraction du P.A.B. perfusé n'ait été métabolisée par des bactéries résiduelles.





TABLEAU XX - Absorption intestinale chez le rat axénique et chez le rat holoxénique

| Substance perfusée      | Concentration de la solution perfusée mg/100 ml | Rats axéniques |            | Rats holoxéniques |            |
|-------------------------|-------------------------------------------------|----------------|------------|-------------------|------------|
|                         |                                                 | Nombre de rats | % absorbé  | Nombre de rats    | % absorbé  |
| Rouge de phénol         | 35,4                                            | 5              | 2          | 5                 | 2,6        |
| Acide salicylique       | 13,8                                            | 8              | 52 ± 5,4   | 8                 | 54 ± 5,7   |
| Acide p-aminobenzoïque  | 13,7                                            | 10             | 40,2 ± 3,1 | 10                | 49,5 ± 3,4 |
| Acide acétylsalicylique | 18                                              | 10             | 38,1 ± 9,8 | 10                | 39,1 ± 7,2 |
| d-xylose                | 800                                             | 8              | 7 ± 0,7    | 9                 | 3,6 ± 0,6  |



- C O N C L U S I O N -

Il n'est pas possible de généraliser l'observation de HENEGHAN, faite avec le d-xylose et d'affirmer que la muqueuse intestinale du rat axénique est plus perméable que celle du rat holoxénique. Nous retrouvons, en utilisant la technique de perfusion de SCHANKER, le résultat de HENEGHAN. Le d-xylose, qui est très peu absorbé chez l'holoxénique, est mieux absorbé chez l'axénique. Mais les trois acides, dont les taux d'absorption sont très différents les uns des autres, sont absorbés d'une manière semblable chez le rat axénique et chez le rat holoxénique. L'acide paraaminobenzoïque, sous certaines réserves, paraît, au contraire du d-xylose, mieux absorbé chez le rat holoxénique par la muqueuse intestinale.

VITESSE DU TRANSIT GASTRO-INTESTINAL CHEZ LE

RAT HOLOXENIQUE, LE RAT AXENIQUE ET LE RAT AXENIQUE CAECECTOMISE

Buts de cette étude

Nous nous sommes proposé :

1 - de comparer la vitesse du transit gastro-intestinal du rat axénique et holoxénique, afin de savoir si les différences, observées par ABRAMS (2) chez la souris, se retrouvent chez le rat.

2 - d'étudier les influences de la caeectomie sur ce transit, chez l'axénique.

Protocole expérimental

La mesure de la vitesse du transit est faite sur des rats Fischer mâles de 300 grammes, qui reçoivent l'aliment S.N. Ces rats sont mis à jeun la veille. Ils ont libre accès à la nourriture après l'inoculation du marqueur, sauf dans certaines expériences où ils sont laissés à jeun, comme il est indiqué par la suite. Ils sont placés sur grille plusieurs jours avant l'expérience. Les mesures sont faites selon les techniques indiquées p. 31, les sujets sont sacrifiés 2 heures, 6 heures et 16 heures après l'administration du marqueur. L'excrétion fécale est mesurée en recueillant la totalité des fèces émises pendant les 16 premières heures, puis toutes les 24 heures, jusqu'à ce que l'excrétion journalière du marqueur devienne inférieure à un centième de la quantité totale retrouvée.

Résultats

Les pourcentages de spores retrouvées dans les divers



organes, sont présentés dans le tableau XXI. Les pourcentages de spores qui sont retrouvées dans l'estomac sont plus faibles chez les holoxéniques que chez les axéniques et, chez ceux-ci, plus faibles que chez les axéniques caeectomisés. Cette tendance s'observe aussi bien à la deuxième heure qu'à la sixième heure, mais seules les différences entre les axéniques caeectomisés et les holoxéniques sont significatives.

Au niveau de l'intestin grêle, les axéniques contiennent davantage de spores, aussi bien à 2 heures qu'à 6 heures, que les deux autres groupes. A 2 heures, seule la différence entre axéniques et holoxéniques est significative. A 6 heures, les valeurs observées chez les axéniques sont significativement plus élevées que dans chacun des deux autres groupes. Il n'existe pas de différence entre les holoxéniques et les axéniques caeectomisés.

Les valeurs présentées dans le tableau XXI permettent de calculer l'indice de transit de l'intestin grêle. A 2 heures celui-ci est plus élevé chez les holoxéniques que chez les deux autres catégories. A 6 heures, il n'y a plus de différence significative entre les holoxéniques chez lesquels cet indice vaut 87,5, et les axéniques caeectomisés chez lesquels il vaut 80, alors que chez les axéniques cet indice vaut 65 et diffère de l'indice de transit des deux autres catégories.

A 2 heures, seul le caecum des holoxéniques a reçu une quantité appréciable de spores. A 6 heures, il en contient encore significativement plus que celui des axéniques, et que le résidu caecal des axéniques caeectomisés qui en contient 22,4 %. A 16 heures l'estomac et l'intestin grêle des trois catégories de rats ne contiennent pratiquement plus de spores. Mais celles-ci se sont accumulées dans le volumineux caecum des axéniques, qui en contient une quantité totale beaucoup plus importante que celui des holoxéniques. Le caecum des rats Fischer axéniques de cette expérience pèse en moyenne 22,6 grammes, le poids moyen des rats étant 290 grammes, le caecum des rats holoxéniques pèse 3,7 grammes, le poids moyen des rats étant 280 grammes. Ce rôle de réservoir du caecum conditionne largement ce qui se passe au niveau du gros intestin ainsi que l'excrétion fécale. Au niveau du gros intestin, la quantité des spores est nulle à 2 heures, encore très faible à 6 heures, sauf chez l'axénique caeectomisé. Chez celui-ci, le résidu du caecum retient peu les spores et dès la sixième heure une quantité importante (29,5 %) a gagné le gros intestin. A 16 heures la plupart des spores ont déjà quitté le gros intestin de l'axénique caeectomisé : il en reste 5,5 % dans cet organe alors que 94,1 % sont déjà dans les fèces. Au même moment chez l'axénique, les spores sont encore en majorité dans le caecum de l'axénique (80,6 %), l'excrétion se fait lentement au niveau du gros intestin qui contient 7,5 % des spores et des matières fécales qui en contiennent 10,9 %. La situation de l'holoxénique est intermédiaire entre celle des deux autres groupes avec 34,7% dans le caecum, 23,9 % dans le gros intestin et 38,4 % dans les fèces.





Dans les jours qui suivent, l'excrétion fécale est très lente chez l'axénique. A partir du 2<sup>e</sup> jour l'excrétion fécale se fait, à certaines irrégularités près, sous la forme d'une exponentielle décroissante pour laquelle  $t \frac{1}{2} = 2,1$  jours chez l'axénique,  $t \frac{1}{2} = 0,3$  jour chez l'holoxénique et l'axénique caeectomisé. Cette décroissance est représentée dans la fig. 5 qui donne les pourcentages moyens de l'excrétion journalière et les limites de confiance de ce pourcentage au risque 5 %. La courbe d'excrétion des sujets axéniques caeectomisés ne s'accorde pas avec les valeurs de l'excrétion fécale à 16 heures données dans le tableau XXI. Ceci peut s'expliquer par le fait que ces rats caeectomisés pratiquent une coprophagie intense qui ne se produit pas chez les sujets des autres lots. Les valeurs du tableau XXI ont été établies en écartant des résultats trois sujets dont l'estomac contenait une quantité de spores du même ordre de grandeur que celle des fèces. Or, la présence de ces spores dans l'estomac ne peut s'expliquer que par la pratique de la coprophagie.

Enfin, l'influence du jeûne est exprimée dans le Tableau XXII qui montre la répartition à la 16<sup>e</sup> heure des spores chez des rats axéniques et chez des rats holoxéniques, selon que ces rats ont eu accès à la nourriture ou ont été laissés à jeûn après l'administration du marqueur. Ces résultats se comprennent mieux en considérant les variations des indices de transit du caecum et du gros intestin (Tableau XXIII). Tous ces indices baissent dans les deux groupes d'animaux soumis au jeûne. Ces diminutions sont relativement plus fortes au niveau du caecum chez les axéniques, et relativement plus fortes au niveau du gros intestin chez les holoxéniques. Ces observations tendent à faire penser que le caecum, chez l'axénique, est un organe passif qui ne se vide qu'en fonction de ce qu'il reçoit, alors que le caecum, chez l'holoxénique, garde une activité motrice plus grande.

#### - C O N C L U S I O N S -

La flore microbienne des cavités digestives exerce une influence sur la vitesse de transit gastro-intestinal. Chez le rat axénique le caecum, en raison de son volume et de sa passivité, ralentit d'une manière très importante le transit dans les parties terminales du tractus digestif. Ce transit est aussi plus lent au niveau de l'intestin grêle et de l'estomac.

Le rat axénique caeectomisé se rapproche du rat holoxénique : à 6 heures les indices de transit de l'intestin grêle de ces deux catégories de rats ne sont pas différents; à partir du deuxième jour les vitesses de l'excrétion dans les fèces du marqueur sont voisines. Mais le rat axénique caeectomisé diffère du rat holoxénique parce que son estomac à 2 heures et à 6 heures contient une quantité plus importante de spores, et par conséquent, se viderait plus lentement ou plus tardivement que celui de l'holoxénique, et parce qu'une plus grande quantité de spores est excrétée dans les fèces au cours des 16 premières heures.



**TABLEAU XXI - Répartition des spores dans les diverses parties du tractus digestif en fonction du temps . (pourcentages moyens ± écart-type de la moyenne)**

| 1 - Deux heures après l'ingestion  |                            |                       |                                       |
|------------------------------------|----------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| Organes                            | Holoxéniques<br>(n=15) (1) | Axéniques<br>(n = 10) | Axéniques<br>caecectomisés<br>(n = 9) |
| Estomac                            | 51,1 $\pm$ 3,3             | 60,8 $\pm$ 4,3        | 68,2 $\pm$ 2,9                        |
| Intestin grêle                     | 24,5 $\pm$ 2,3             | 38,9 $\pm$ 4,3        | 30,9 $\pm$ 2,8                        |
| Caecum                             | 24,0 $\pm$ 4,1             | 0,3 $\pm$ 0,2         | 0,22 $\pm$ 0,35                       |
| Gros intestin                      | 0                          | 0                     |                                       |
| Fèces                              | 0                          | 0                     | 0                                     |
| 2 - Six heures après l'ingestion   |                            |                       |                                       |
| Organes                            | Holoxéniques<br>n = 11     | Axéniques<br>n = 10   | Axéniques<br>caecectomisés<br>n = 9   |
| Estomac                            | 21,5 $\pm$ 4,0             | 34,1 $\pm$ 5,6        | 44,7 $\pm$ 4,2                        |
| Intestin grêle                     | 9,5 $\pm$ 2,2              | 23,1 $\pm$ 4,2        | 10,8 $\pm$ 2,4                        |
| Caecum                             | 67,7 $\pm$ 4,9             | 42,2 $\pm$ 6,8        | 44,4 $\pm$ 4,6                        |
| Gros intestin                      | 1,1 $\pm$ 0,3              | 0,6 $\pm$ 0,4         |                                       |
| Fèces                              | 0                          | 0                     | 0                                     |
| 3 - Seize heures après l'ingestion |                            |                       |                                       |
| Organes                            | Holoxéniques<br>n = 6      | Axéniques<br>n = 7    | Axéniques<br>caecectomisés<br>n = 7   |
| Estomac                            | 1,7 $\pm$ 0,6              | 0,5 $\pm$ 0,3         | 0,2                                   |
| Intestin grêle                     | 1,3 $\pm$ 0,7              | 0,5 $\pm$ 0,2         | 0,2                                   |
| Caecum                             | 34,7 $\pm$ 3,6             | 80,6 $\pm$ 3,0        | 5,5 $\pm$ 2,0                         |
| Gros intestin                      | 23,9 $\pm$ 5,0             | 7,5 $\pm$ 0,9         |                                       |
| Fèces                              | 38,4 $\pm$ 6,8             | 10,9 $\pm$ 2,7        | 94,1 $\pm$ 1,9                        |

(1) n = nombre de sujets par lots.





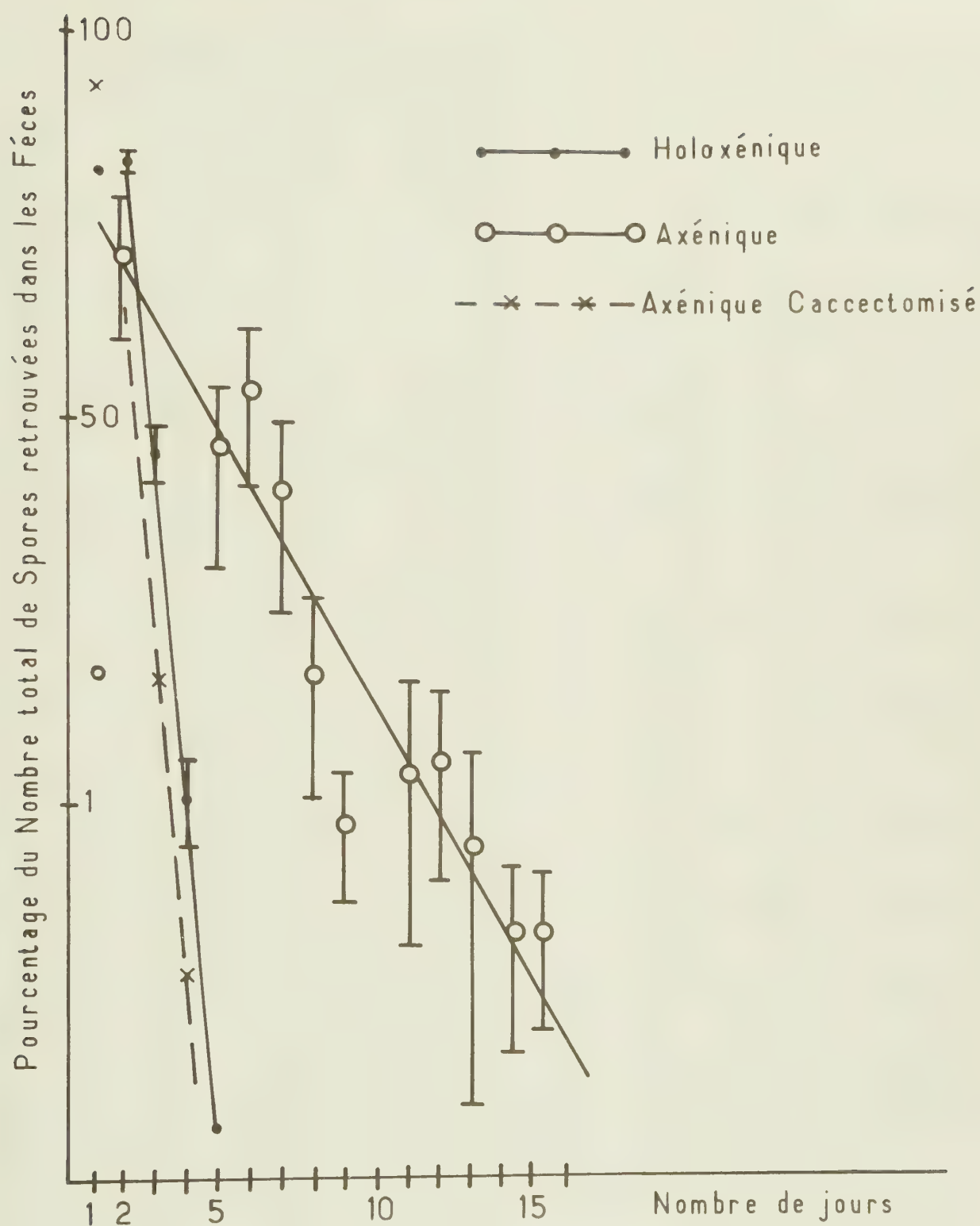


Fig. 5 - Excrétion fécale des spores. Les pourcentages sont exprimés par la valeur moyenne et les limites de confiance au risque de 5 % .



TABLEAU XXII - Pourcentages du nombre de spores dans les divers segments du tractus digestif à 16 heures. Influence du jeûne. (moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne).

|                                    | Estomac       | Intestin grêle | Caecum         | Gros intestin  | Fèces          |
|------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                                    | 0,5 $\pm$ 0,3 | 0,5 $\pm$ 0,2  | 80,6 $\pm$ 3,0 | 7,5 $\pm$ 0,9  | 10,9 $\pm$ 2,7 |
| 1) Axéniques<br>avec nourriture    |               |                |                |                |                |
| sans nourriture                    | 0             | 2,3 $\pm$ 1,8  | 89,0 $\pm$ 2,4 | 6,6 $\pm$ 1,4  | 2,1 $\pm$ 1,1  |
| 2) Holoxéniques<br>avec nourriture | 1,7 $\pm$ 0,6 | 1,3 $\pm$ 0,7  | 34,7 $\pm$ 3,6 | 23,9 $\pm$ 5,0 | 38,5 $\pm$ 6,8 |
| sans nourriture                    | 0             | 0              | 41,6 $\pm$ 2,4 | 54,1 $\pm$ 3,9 | 4,3 $\pm$ 3,7  |

TABLEAU XXIII - Indice de transit à 16 heures - Influence du jeûne

|                                    | Estomac | Intestin grêle | Caecum | Gros intestin |
|------------------------------------|---------|----------------|--------|---------------|
|                                    | 99,5    | 99             | 18,4   | 59            |
| 1) Axéniques<br>avec nourriture    |         |                |        |               |
| sans nourriture                    | 100     | 97,6           | 8,9    | 24            |
| 2) Holoxéniques<br>avec nourriture | 98,3    | 98,6           | 64,3   | 61,6          |
| sans nourriture                    | 100     | 100            | 58,4   | 7,3           |



# ACTION DE LA FLORE MICROBIENNE A DISTANCE DU TRACTUS DIGESTIF

-----

## MODIFICATION DE L'ACTIVITE HEPATIQUE

### CLEARANCE DE LA BROMOSULFONEPHTHALEINE

#### But de cette étude

Par sa fonction de glance exocrine, le foie épure le sang de nombreuses substances d'origine endogène comme les hormones corticoïdes, l'hormone thyroïdienne, le cholestérol, les sels biliaires, la bilirubine etc., ou d'origine exogène comme les métabolites toxiques d'origine bactérienne qui proviennent du tractus digestif. Nombre de ces substances après avoir été excrétées par le canal cholédoque et exposées à l'action des bactéries intestinales sont à nouveau absorbées et font retour au foie (hormones corticoïdes, hormone thyroïdienne, cholestérol, sels biliaires).

Chez le rat axénique, le poids du foie n'est pas modifié, mais la circulation sanguine au niveau de cet organe est réduite de 50 p. 100 (211). Nous nous sommes proposé d'étudier si l'aptitude de cet organe à retirer la bromosulfonephtaléine de la circulation sanguine et à l'excréter par la bile était modifiée chez le rat axénique.

L'élimination de la B.S.P. du sang se fait presque entièrement par la bile (30), selon un processus complexe (9, 20, 31) qui met en oeuvre : la fixation par l'hépatocyte et son stockage, la conjugaison de la B.S.P. avec le glutathion après expulsion de l'ion brome, qui se fait sous l'action d'une enzyme, enfin le passage dans la bile.

#### Protocole expérimental

Nous utilisons des sujets de race Lobund, d'un poids moyen de 280 g et des témoins holoxéniques de même race, d'un poids moyen de 300 g et nourris à l'aide du régime L. Les prélèvements de sang sont faits au temps 1, 2, 4 et 8 minutes. Les prélèvements de bile sont faits en collectant la bile écoulee en une minute pendant les dix premières minutes, puis pendant des intervalles de temps croissant, comme il est indiqué dans le tableau XXIV.

Etant donné les altérations que peuvent apporter les prises de sang répétées sur un animal de petite taille, et le cathétérisme du canal cholédoque, l'attention a surtout porté sur l'élimination observée pendant les dix premières minutes.





## Résultats

Les valeurs des concentrations plasmatiques sont représentées dans la figure 6. Bien que la B.S.P. ait été injectée à une dose égale par rapport au poids vif des rats, les concentrations plasmatiques initiales sont sensiblement plus élevées chez les sujets axéniques. Ceci s'explique par le fait qu'il n'a pas été tenu compte du poids du caecum pour déterminer la dose à injecter, et peut-être aussi en raison de l'état d'hémoconcentration observé par GORDON chez le rat axénique ( 75 ). Les valeurs observées au temps 1, 2 et 4 minutes peuvent être considérées comme décroissant d'une manière exponentielle. Au temps 8 minutes, les concentrations plasmatiques sont nettement plus élevées qu'elles ne le seraient selon la loi exponentielle. La concentration sanguine n'est plus que le 1/5 de la concentration mesurée au temps 1 minute. Pendant toute cette période où les 4/5 de la B.S.P. sont captés par le foie, l'évolution des concentrations plasmatiques des deux groupes de rats est peu différente.

Par contre, l'excrétion de la B.S.P. dans la bile est beaucoup plus rapide chez le rat holoxénique que chez le rat axénique (tableau XXIV). Chez le rat holoxénique elle est décelable dès le premier prélèvement (temps 2 m 30), atteint un maximum entre 6 m 30 et 7 m 30. Pendant cette période l'excrétion est plus de trois fois supérieure à celle des axéniques (15,3 % de la dose injectée contre 4,9 %), alors que la concentration sanguine est peu différente.

L'excrétion chez les axéniques ne dépasse celle des holoxéniques qu'entre la 20 ème et la 40 ème minute, et demeure décelable jusqu'à la 140 ème minute, alors qu'elle ne l'est plus chez les holoxéniques après la 110 ème minute.

## - C O N C L U S I O N -

L'excrétion de la B.S.P. est retardée chez le rat axénique. Les observations faites pendant la période initiale permettent de penser qu'il n'y a pas de différence importante dans la fixation de ce produit par l'hépatocyte, mais qu'une différence importante existe dans la capacité à métaboliser et à excréter la substance par la bile.

## METABOLISME DE BASE

### Buts de cette étude

Nous nous sommes proposé de déterminer si l'absence de flore microbienne s'accompagne d'une diminution du métabolisme de base, en comparant la consommation d'oxygène chez le rat axénique et chez le rat holoxénique, pla-



TABLEAU XXIV - Elimination biliaire de la B.S.P. chez le rat axénique et chez le rat holoxénique.

Quantités de B.S.P. excrétées à divers intervalles de temps exprimés en % de la quantité injectée.

| Temps en minutes (1) | 0 à (1)<br>2mn 30s | 2m <sub>a</sub> 30s<br>3m 30s | 3m <sub>a</sub> 30s<br>4m 30s | 4m <sub>a</sub> 30s<br>5m 30s | 5m <sub>a</sub> 30s<br>6m 30s | 6m <sub>a</sub> 30 s<br>7 m 30s | 7 m <sub>a</sub> 30s<br>8 m 30s | 8 m <sub>a</sub> 30s<br>9 m 30s | 9m <sub>a</sub> 30s<br>10 m 30s | 10m <sub>a</sub> 30s<br>20 mn | 20 <sub>a</sub> m<br>40 m | 40 <sub>a</sub> mn<br>60 mn |
|----------------------|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Rats<br>Holoxéniques |                    |                               |                               |                               |                               |                                 |                                 |                                 |                                 |                               |                           |                             |
| 1                    | 0,34               | 1                             | 2,35                          | 3                             | 3,56                          | 4,47                            | 4,47                            | 4,47                            | 4,54                            | 26,4                          | 10,5                      | 2,78                        |
| 2                    | 0,35               | 0,78                          | 2,65                          | 3,33                          | 4,52                          | 5,11                            | 2,45                            | 3,66                            | 3,09                            | 24,88                         | 7,4                       | 2,65                        |
| 3                    | 0,47               | 1,30                          | 2,22                          | 3,10                          | 3,80                          | 4,70                            | 5                               | 4,67                            | 3,50                            | 14                            | 4,7                       | 1,10                        |
| 4                    |                    |                               |                               |                               | 3,46                          | 3,91                            | 4,04                            | 3,28                            | 2,90                            | 28,2                          | 3,96                      | 1,40                        |
| Moyenne              | 0,38               | 1,02                          | 2,40                          | 3,14                          | 3,83                          | 4,54                            | 4,06                            | 4,02                            | 3,50                            | 23,3                          | 6,60                      | 1,98                        |
| Rats<br>Axéniques    |                    |                               |                               |                               |                               |                                 |                                 |                                 |                                 |                               |                           |                             |
| 1                    | traces             | 0,20                          | 0,51                          | 1,05                          | 1,03                          | 1,49                            | 1,74                            | 2,09                            | 2,08                            | 15,6                          | 13,2                      | 4,06                        |
| 2                    | -                  | 0,67                          | 1,62                          | 1,86                          | 1,40                          | 2,30                            | 2,70                            | 3,24                            | 3,20                            | 21,2                          | 10                        | 3,92                        |
| 3                    | -                  | 0,22                          | 0,47                          | 0,65                          | 1                             | 1,03                            | 1,25                            | 0,94                            | 1,34                            | 10,53                         | 25                        | 12,0                        |
| 4                    | -                  | 0,36                          | 0,86                          | 1,18                          | 1,14                          | 1,60                            | 1,89                            | 2,09                            | 2,20                            | 15,7                          | 14                        | 6,6                         |
| Moyenne              |                    | 0,36                          | 0,61                          | 1,18                          | 1,14                          | 1,60                            | 1,89                            | 2,09                            | 2,20                            | 15,7                          | 15,5                      | 6,64                        |

(1) - Temps en minutes depuis l'injection





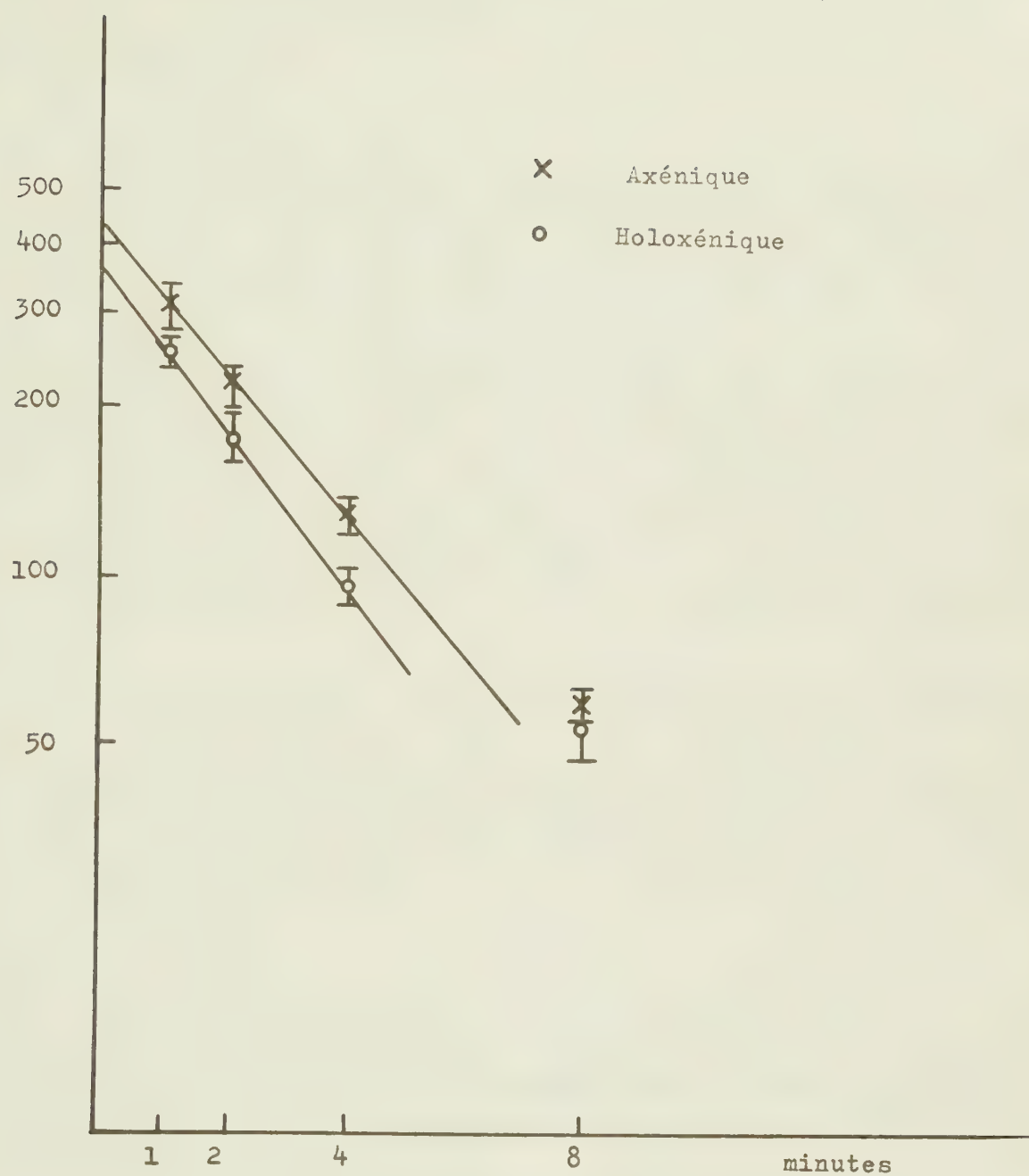


Fig. 6 - Concentration plasmatique de la B.S.P.

en  $\mu g$  par ml. Moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne



cés dans les conditions où la dépense énergétique est minimale. Nous nous sommes proposé ensuite de déterminer si les différences que nous avons observées, étaient en rapport avec une modification du métabolisme thyroïdien en mesurant d'une part, la fixation de l'iode par la thyroïde, et d'autre part l'iodémie.

### Protocole expérimental

1° - La mesure de la consommation de l'oxygène est faite sur cinq rats axéniques et cinq rats holoxéniques de race "Lobund" mâles, adultes, de même âge, de poids semblable, mis à jeûn depuis 24 heures et placés dans les conditions de neutralité thermique. Deux séries de mesures sont ainsi faites.

2° - La mesure de la fixation de l'I<sup>131</sup> est faite sur des sujets "Lobund" semblables à ceux de l'expérience précédente, mais qui ont reçu un régime alimentaire appauvri en iode. Deux séries d'expériences sont effectuées. Dans la même série, tous les animaux reçoivent le régime L contenant 430 µg de IK pour 100 g pendant 15 jours. Dans la deuxième série, les animaux suivent un régime moins riche en iode, contenant seulement 260 µg de IK pour 1 000 g d'aliment et ne renfermant pas de poudre de foie, ceci pendant huit semaines à dater du sevrage.

3° - Mesures de l'iodémie. Ces mesures sont faites sur des sujets de race C.F. qui reçoivent le régime D.P. contenant 340 µg d'iode pour 100 g d'aliment. Les prélèvements sont faits le même jour sur des sujets axéniques et holoxéniques de même âge, de poids semblables. Plusieurs prélèvements sont faits ainsi à divers moments de l'année, et chez les axéniques, sur des sujets provenant de divers isolateurs.

### Résultats

1° - Métabolisme de base - Les résultats sont consignés dans le tableau XXV : les animaux axéniques ont un métabolisme de base significativement inférieur à celui des animaux holoxéniques; la différence est d'environ 18 % de la valeur observée chez les holoxéniques.

2° - Fixation de l'I<sup>131</sup> par la thyroïde - Les résultats des deux séries d'expériences sont consignés dans le tableau XXVI : les quantités d'iode fixées par les animaux axéniques sont très significativement inférieures à celles des animaux témoins. Les faibles valeurs absolues des quantités de I<sup>131</sup>, fixées dans la première expérience s'expliquent par le fait que les animaux n'ont suivi un régime pauvre en iode que pendant deux semaines et leur thyroïde n'a pas montré une grande activité pour l'iode injectée. Dans la deuxième expérience, par contre, où les animaux ont suivi un régime plus pauvre en iode qui a duré huit semaines, l'absorption a été environ six à huit fois plus forte.



TABLEAU XXV - Métabolisme basal - Calories / m<sup>2</sup> / heure. (Moyenne et écart-type de la moyenne).

| Type de rats | Holoxénique<br>n = 5 | Axénique<br>n = 5   | p (1) |
|--------------|----------------------|---------------------|-------|
| 1er essai    | 39, (43) $\pm$ 0,90  | 32, (04) $\pm$ 0,37 | 0,01  |
| 2ème essai   | 40, (65) $\pm$ 0,37  | 33, (14) $\pm$ 0,81 | 0,001 |

(1) p = probabilité que la différence soit significative

TABLEAU XXVI - Pourcentage de l'I <sup>131</sup> fixé par la thyroïde.  
(Moyenne et écart-type de la moyenne).

| Type de rats    | Holoxénique               | Axénique                  | p (1) |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| 1ère expérience | 3,17 $\pm$ 0,4<br>n = 7   | 1,64 $\pm$ 0,11<br>n = 6  | 0,01  |
| 2ème expérience | 17,91 $\pm$ 1,29<br>n = 5 | 13,19 $\pm$ 1,07<br>n = 5 | 0,02  |

(1) p = probabilité que la différence soit significative





Ces résultats suggèrent une légère diminution de l'activité de la thyroïde, chez les rats axéniques.

### 3° - Iodémie

Les mesures sont représentées dans le tableau XXVII. L'examen de ce tableau montre que les mesures faites sur un même lot de sujets donnent toujours des résultats très homogènes, mais que les résultats varient d'une manière très importante d'un lot à un autre.

Au sein d'un même lot, la concentration de l'iode total dans le sang est très supérieure à celle de l'iode lié aux protéines, du fait, sans doute, de la présence d'une quantité importante d'iodures d'origine alimentaire. La concentration de l'iode lié aux protéines est elle-même très supérieure à celle de l'iode extractible par le butanol. D'après DANOWSKI et coll., (37), l'expression correcte de l'iode hormonal au niveau du sang, est l'iode extractible par le butanol; les différences observées au cours de ces expériences entre l'iode extractible par le butanol et l'iode lié aux protéines proviendraient d'une contamination des protéines sanguines par de l'iode quand l'apport alimentaire est excessif. Il apparaît que le sang du rat axénique contient davantage d'iode hormonal que celui de l'holoxénique.

## - C O N C L U S I O N -

Le métabolisme de base du rat axénique est plus faible que celui du rat holoxénique. Cette diminution n'a certainement pas pour origine un ralentissement de l'activité oxydative au niveau cellulaire en relation avec une altération du métabolisme thyroïdien. Certes, la thyroïde du rat axénique fixe moins l'iode que celle du rat holoxénique, mais cette différence est faible. En outre, la concentration de l'hormone thyroïdienne circulante apparaît plus élevée chez le rat axénique que chez le rat holoxénique.

Il est vraisemblable que ce plus faible métabolisme basal chez le rat axénique résulte d'une réduction de certaines dépenses énergétiques, puisque chez celui-ci la circulation sanguine est moins active (210) et que certains tissus se renouvellent plus lentement (p.40).

### CROISSANCE PONDERALE

#### But de cette étude

Il n'existe aucune donnée concernant la croissance pondé-



TABLEAU XXVII - Valeurs de l'iodémie expérimentée en  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$  de sérum selon l'état microbien, le lot, le sexe. Moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne

| Rats       | Lot | n (1) | Sexes    | Iode total      | Iode lié<br>aux protéines | Iode extrait<br>par le buthanol |
|------------|-----|-------|----------|-----------------|---------------------------|---------------------------------|
| Axéniques  | A   | 13    | femelles | $12,4 \pm 0,42$ | $8,1 \pm 0,19$            |                                 |
|            |     | 10    | mâles    | $12,7 \pm 0,31$ | $9,8 \pm 0,31$            |                                 |
|            | B   | 3     | mâles    | $11,0 \pm 0,67$ | $6,5 \pm 0,32$            | 5,7 (*)                         |
|            | C   | 4     | mâles    | $19,6 \pm 0,91$ | $8,7 \pm 0,34$            | 6,8 (*)                         |
|            | D   | 5     | mâles    | 16 (*)          | 11,6 (*)                  | 5,2 (*)                         |
| Loxéniques | A   | 10    | femelles | $11,3 \pm 0,15$ | $5,75 \pm 0,19$           |                                 |
|            |     | 9     | mâles    | $13,5 \pm 0,35$ | $5,98 \pm 0,17$           |                                 |
|            | B   | 6     | mâles    | $17,0 \pm 0,39$ | $5,1 \pm 0,16$            | 2,8 (*)                         |
|            | C   | 7     | mâles    | $13,6 \pm 0,6$  | $5,8 \pm 0,28$            | 4,0 (*)                         |
|            | D   | 5     | mâles    | 11,0 (*)        | 8,2 (*)                   | 3,6 (*)                         |

(1) nombre de sujets

(\*) valeurs déterminées sur le mélange des sérums





rale du rat axénique, si ce n'est une observation de GORDON (76) d'après laquelle, si l'on déduit du poids vif du rat le poids du caecum, considéré comme un poids mort, le rat axénique âgé de 3 mois à 3 mois et demi est moins lourd que le rat holoxénique du même âge.

Nous nous proposons de vérifier cette assertion.

#### Protocole expérimental

L'observation consiste à rapporter l'évolution du poids vif de rats C.F. élevés à l'aide du régime D.P. dans les conditions axéniques, holoxéniques et hétéroxéniques, ainsi que l'évolution du poids vif des rats Fischer élevés dans les conditions axéniques et holoxéniques. Les rats Fischer sont élevés en consanguinité stricte. Les rats C.F., au contraire, sont élevés de manière à réduire au minimum la consanguinité. Les sujets des différentes catégories sont choisis de manière à ce qu'au sein d'une même race, leur constitution génétique soit très voisine.

#### Résultats

Ils sont représentés dans le tableau XXVIII. Les différences de poids, au sein d'une même race, entre les catégories sont faibles. Dans les deux races, les rats axéniques ont un poids supérieur à celui des holoxéniques quand on ne tient pas compte du poids du caecum. Quand on déduit le poids du caecum, estimé d'après les équations du tableau XII, cette différence disparaît, et même s'inverse chez les rats Fischer. Elle persiste en faveur des rats C.F. axéniques pendant la période de croissance maximale, mais demeure très faible, et disparaît après le 72<sup>ème</sup> jour, c'est à dire, dès que la période de croissance maximale est terminée. Les rats C.F. hétéroxéniques, à partir du 65<sup>ème</sup> jour, tendent à être plus lourds que les sujets des deux autres catégories, mais la différence est faible et non significative.

#### - C O N C L U S I O N S -

Dans les conditions où se sont faites ces observations, il ne semble pas exister de différence importante entre la croissance pondérale des rats axéniques, holoxéniques et hétéroxéniques.



TABLEAU XXVIII - Croissance comparée des rats axéniques et polyxéniques.

Moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne des poids corporels  
en fonction de l'âge .

| Age en<br>jours | Poids<br>du<br>Corps | C.F.                 |                        |                          | Fischer              |                        |
|-----------------|----------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|----------------------|------------------------|
|                 |                      | Axéniques<br>n = 30  | Holoxéniques<br>n = 43 | Hétéroxéniques<br>n = 22 | Axéniques<br>n = 30  | Holoxéniques<br>n = 43 |
| 23              | P                    | 52 $\pm$ 2,1         | 44 $\pm$ 1,2           |                          | 39 $\pm$ 1,0         | 57 $\pm$ 0,7           |
| 30              | P                    | 78 $\pm$ 1,3         | 70 $\pm$ 1,8           | 72 $\pm$ 5,4             | 66 $\pm$ 1,5         | 59 $\pm$ 1,0           |
| 37              | P<br>P-C             | 112 $\pm$ 2,3<br>103 | 97 $\pm$ 2,6           | 100 $\pm$ 6,4            | 96 $\pm$ 2,3         | 89 $\pm$ 1,6           |
| 44              | P<br>P-C             | 144 $\pm$ 3,4<br>134 | 128 $\pm$ 3,3<br>124   | 130 $\pm$ 7,1<br>125     | 125 $\pm$ 2,6        | 118 $\pm$ 1,9          |
| 51              | P<br>P-C             | 176 $\pm$ 3,8<br>165 | 158 $\pm$ 3,4<br>154   | 166 $\pm$ 8,5<br>161     | 158 $\pm$ 2,9<br>138 | 144 $\pm$ 2,0<br>141   |
| 58              | P<br>P-C             | 214 $\pm$ 4,4<br>201 | 185 $\pm$ 5,0<br>180   | 201 $\pm$ 9,0<br>196     | 187 $\pm$ 3,6<br>161 | 170 $\pm$ 3,1<br>166   |
| 65              | P<br>P-C             | 239 $\pm$ 4,9<br>226 | 226 $\pm$ 4,0<br>221   | 236 $\pm$ 7,9<br>231     | 205 $\pm$ 3,6<br>181 | 192 $\pm$ 3,3<br>188   |
| 72              | P<br>P-C             | 267 $\pm$ 5,4<br>253 | 253 $\pm$ 4,1<br>247   | 266 $\pm$ 7,3<br>260     | 219 $\pm$ 3,7<br>194 | 207 $\pm$ 3,3<br>203   |
| 79              | P<br>P-C             | 286 $\pm$ 5,6<br>272 | 276 $\pm$ 4,0<br>270   | 287 $\pm$ 8,1<br>281     | 242 $\pm$ 4,2<br>215 | 222 $\pm$ 3,5<br>217   |
| 86              | P<br>P-C             | 301 $\pm$ 6,2<br>286 | 290 $\pm$ 4,5<br>285   |                          | 255 $\pm$ 4,4<br>227 | 234 $\pm$ 4,0<br>229   |

P = poids vif

P-C = poids vif - poids du caecum

n = nombre de  
rats









dont la caeectomie porte remède à ce défaut.

Le renouvellement de l'épithélium intestinal est un des caractères les plus importants de la physiologie digestive et son déterminisme est encore inconnu. Les divergences observées, concernant la différence de vitesse de renouvellement de l'épithélium entre rat axénique et rat holoxénique, selon la méthode choisie pour l'évaluer, mesure de l'index mitotique ou marquage du noyau par la thymidine tritiée, peuvent faire l'objet de trois explications :

- ou bien les villosités de l'animal axénique sont plus courtes que celles de l'animal holoxénique et dans ce cas le fait de chiffrer la progression du taux de cellules marquées en pourcentage conduit à une erreur qui minimise la différence réelle. Cette hypothèse n'est pas vraisemblable, car une telle différence de la longueur des villosités serait immédiatement visible sur les coupes histologiques.

- ou bien l'index mitotique de l'axénique est mesuré par défaut. Les raisons suivantes militent en faveur de cette hypothèse :

a) LESHER (121) a montré que le cycle mitotique des cellules était plus long chez le rat axénique que chez le rat holoxénique. Il est normal que dans ces conditions, la mesure de l'index mitotique soit modifiée par défaut;

b) La mesure de l'index mitotique est entachée d'une erreur en raison de la répartition des mitoses. En effet, si l'on compte le nombre de mitoses par crypte, on s'aperçoit que la distribution observée n'est pas une distribution de Poisson. Le nombre de cryptes sans mitose est moins élevé que prévu alors que le nombre de cryptes à 7 mitoses ou plus est plus élevé. C'est là la preuve d'un aspect "contagieux" du phénomène. Une telle situation, qui prouve que la répartition n'est pas due au hasard, est d'autant plus préjudiciable que le pourcentage de mitoses devient petit.

- ou bien enfin, le nombre des cellules souches par crypte est inférieur chez l'axénique. C'est une hypothèse vraisemblable qui d'ailleurs fut proposée par THRASHER (192), pour expliquer la faible vitesse de renouvellement des entérocytes chez les très jeunes animaux. C'est également une hypothèse intéressante qui tendrait à montrer que l'influence de la microflore se fait sentir à ce niveau, puisque par définition les nouveau-nés sont équivalents, qu'ils soient axéniques ou non.

Quelle que soit la méthode choisie pour mesurer la vitesse de renouvellement de l'épithélium, il est certain que celle-ci est accrue par la présence de la flore microbienne.

Certains faits suggèrent une action directe, locale, de la prolifération bactérienne sur le renouvellement de la muqueuse et une liaison entre l'abondance des bactéries en un point de l'intestin grêle, et la vitesse



de renouvellement de la muqueuse en cet endroit. C'est ainsi que, chez le sujet holoxénique pourvu d'une anse aveugle, il y a une très importante accélération du renouvellement à tous les niveaux de l'intestin grêle et la population microbienne augmente aussi à tous les niveaux, en particulier, en amont de l'anse aveugle, en sorte que la quantité de bactéries par gramme d'intestin augmente peu du duodénum à l'iléon (voir figure 2). Dans l'anse aveugle, où la population bactérienne est la plus élevée, l'activité mitotique des cryptes de Lieberkühn est maximale; elle est parfois décuplée.

Cependant, chez le sujet holoxénique non opéré, l'activité mitotique augmente d'une manière égale aux trois niveaux de l'intestin grêle, quand on le compare à l'axénique. Or, chez ce sujet, la flore microbienne croît de façon importante du duodénum à l'iléon (voir figure 1). L'accélération au niveau du duodénum est plus importante que la population bactérienne ne le laisse prévoir, dans la mesure où on considère que cette accélération dépend d'une action directe, locale de cette population microbienne. Enfin, la caeectomie augmente, chez le rat axénique, la vitesse du renouvellement au niveau du duodénum, n'exerce pas d'action au niveau du jéjunum et exerce une action négative et ralentit cette vitesse au niveau de l'iléon.

Si on suppose que la flore intestinale, outre l'action locale et directe que nous avons évoquée, est capable d'avoir au niveau du caecum une action semblable à la caeectomie, que nous appellerons action indirecte, on s'explique mieux l'action de la flore microbienne chez le rat holoxénique. Au niveau du duodénum, l'action directe est très faible, mais l'action indirecte est très importante et positive; au niveau du jéjunum, l'action directe augmente, l'action indirecte diminue; au niveau de l'iléon l'action indirecte est négative, mais l'action directe est très intense.

Or, il existe des exemples où la caeectomie chez l'axénique produit des résultats semblables à l'action que la flore microbienne exerce au niveau du caecum chez l'holoxénique. WOSTMANN (210) observe que la caeectomie rétablit la circulation sanguine et le métabolisme de base, qui sont diminués chez l'axénique, à des valeurs qui sont voisines de ce qu'elles sont chez le rat holoxénique. Il est donc possible qu'il en soit de même de la vitesse de renouvellement de l'épithélium.

Quelque soit le déterminisme selon lequel la flore agit sur le renouvellement de l'épithélium, l'existence de cette action est riche de conséquences. En effet, la desquamation de l'épithélium intestinal contribue pour une part importante à l'excrétion fécale d'azote. COMBE et coll. (28), COMBE et SACQUET (29) ont observé que dans le contenu caecal de l'axénique, la proportion de matières azotées insolubles était plus faible. L'absence de corps bactériens mais aussi la desquamation plus faible de l'épithélium intestinal contribue certainement à l'établissement de ce caractère.





Chez le rat holoxénique porteur d'une anse aveugle, la flore intestinale est plus abondante et la desquamation de l'épithélium est plus rapide : nous constatons que l'excrétion fécale d'azote est plus importante que chez le rat intact. En effet, le rat holoxénique et le rat holoxénique porteur d'une anse aveugle excrètent respectivement 3,28 et 6,78 mg d'azote fécal par g d'aliment S.N. ingéré.

Chez le rat holoxénique, les entérocytes ont une vie réelle plus courte que leur vie potentielle. Les conséquences de cette durée de vie plus longue chez le rat axénique ont été très peu étudiées. DAHLQVIST et coll. (36), REDDY et WOSTMANN (152) ont montré que chez le rat, les disaccharidases, qui sont essentiellement synthétisées dans l'entérocyte et libérées par autolyse des cellules desquamées sont deux fois plus abondantes que chez le rat holoxénique. Ceci peut s'expliquer, soit par ce que la vie plus longue de l'entérocyte a pour conséquence un état de "maturation" plus accomplie et la production d'une plus grande quantité d'enzymes, soit par ce que ces enzymes sont moins détruites du fait de l'absence de flore, soit pour ces deux raisons. L'entérocyte a des activités multiples de synthèse (lipides, cholestérol....), et d'absorption active qui mériteraient d'être étudiées en fonction de sa durée de vie.

Quant à l'absorption passive, au niveau de l'intestin grêle, elle ne semble guère modifiée. Il convient cependant de remarquer que les résultats des mesures d'absorption peuvent varier selon les techniques employées. Récemment, TENNANT et coll. (189) ont administré du d-xylose à la sonde stomacale, recherché la quantité de ce pentose qui persiste dans l'estomac, l'intestin grêle, le caecum et le gros intestin six heures plus tard, et estimé la quantité qui a été absorbée en faisant la différence entre la quantité donnée et la quantité qui reste au niveau du tractus digestif. Dans ces conditions, ces auteurs observent que le d-xylose est mieux absorbé chez le rat polyxénique que chez le rat axénique, ce qui s'oppose aux conclusions de HENEGHAN et aux nôtres.

De même que la vitesse de renouvellement de l'épithélium est modifiée à tous les niveaux de l'intestin grêle, de même la vitesse du transit gastro-intestinal est modifiée dès l'estomac. La mesure des vitesses de transit est une opération emprunte d'artifice. Les résultats varient selon la nature du marqueur, selon la manière dont il est administré et selon la substance dans laquelle il est incorporé. Nous nous sommes proposé de comparer le transit de spores chez le rat axénique, axénique caecectomisé et holoxénique, et cette expérience a un caractère essentiellement comparatif. Les méthodes étant différentes, il n'est pas surprenant que les résultats obtenus chez l'holoxénique soient assez différents de ceux qu'ont observés MARCUS et LENGEMANN (128). Ces auteurs utilisent un marqueur de nature différente, l'Yttrium 91, conditionnent les rats à prendre le repas pendant un temps de 10 minutes, ou donnent leur mar-





queur sous un volume de 1 ml. Le mode opératoire que nous avons choisi est semblable à celui qu'utilisent ABRAMS et BISHOP chez la souris (2), à ceci près que ces auteurs utilisent aussi l'Yttrium 91 comme marqueur, alors que nous utilisons des spores bactériennes.

Il existe une certaine similitude entre l'action qu'exerce la flore microbienne sur le transit gastro-intestinal du rat et de la souris. Chez ces deux espèces animales l'estomac et l'intestin grêle ont tendance à contenir une proportion plus importante du marqueur, en l'absence de flore microbienne. Mais une différence importante entre le rat et la souris est que ce retard du transit, au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle persiste beaucoup plus longtemps chez la souris axénique que chez le rat axénique.

Le mode d'action par lequel la flore intestinale modifie la vitesse du transit au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle est inconnu. L'ablation du caecum n'accélère pas le transit stomacal du rat axénique, mais semble au contraire, le ralentir. Elle accélère le transit au niveau de l'intestin grêle et du résidu caecal au point que dans les seize premières heures l'excrétion fécale est plus rapide que chez le rat holoxénique. La caeectomie ne permet donc pas de rétablir un transit semblable à celui du rat holoxénique.

Les conséquences du ralentissement du transit gastro-intestinal chez le rat axénique sont peu connues. GUSTAFSSON et NORMAN (92) estiment que la plus forte excrétion des acides biliaires dans les matières fécales de l'holoxénique est sans doute causée par la vitesse plus grande du transit chez celui-ci et non par les modifications d'ordre physico-chimique que la flore microbienne fait subir à ces composés. Cet exemple montre la nécessité de connaître l'ensemble des propriétés de l'organisme pour étudier un métabolisme particulier.

Il est surprenant que, dans l'épreuve à la bromosulfonephthaléine, il n'y ait pas de différence importante entre sujet axénique et sujet holoxénique, dans la décroissance de la concentration sanguine, au cours des premières minutes qui suivent l'inoculation puisque cette décroissance initiale est considérée comme dépendant de la circulation sanguine au niveau du foie, qui d'après WOSTMANN et coll. (211) est très diminuée chez l'axénique. L'épreuve permet de conclure que l'hépatocyte assume moins activement la fonction de métaboliser et d'excréter par la bile la B.S.P. Ce ralentissement de l'activité de l'hépatocyte suggère que le cycle entéro-hépatique pourrait être modifié chez le rat axénique : les substances qui le subissent ne sont pas altérées au cours de leur passage dans l'intestin, du fait de l'absence de flore. Elles transitent plus lentement au niveau de cet organe. Elles seraient moins activement métabolisées au niveau du foie. Les modifications du cycle entéro-hépatique seraient susceptibles d'influencer le métabolisme des acides biliaires, du cholestérol, de l'hormone thyroïdienne, des hormones corticoïdes, alors que jusqu'à maintenant, c'est



surtout l'excrétion de certaines de ces substances qui a été étudiée. (56, 87, 92, 93, 94, 95, 111).

Les modifications du métabolisme de base sont, elles aussi, riches de conséquences possibles. De nombreuses expériences ont été faites dans lesquelles un métabolisme était étudié en mesurant la quantité de  $^{14}\text{C O}^2$  formé à la suite d'une injection de produit marqué au carbone  $^{14}\text{C}$  (8,204, 212). La conclusion a souvent été tirée de ces expériences, qu'en l'absence de flore, tel métabolisme est ralenti parce que moins de  $^{14}\text{C O}^2$  est formé dans un temps donné et c'est naturellement exact. Mais il serait intéressant de savoir si ce métabolisme est ralenti comme est ralenti tout le métabolisme du sujet axénique, ou s'il relève d'une action plus spécifique de la flore. Il faudrait donc considérer non pas la quantité totale de  $^{14}\text{C O}^2$  formé, mais l'activité spécifique du  $\text{CO}^2$ . Il pourrait aussi être judicieux d'utiliser des sujets caecectomisés, ou des sujets gnotoxéniques dont le caecum est réduit.

La diminution de la consommation d'oxygène chez le rat axénique est d'après LEVENSON (122) pour une très faible part le fait de l'absence de bactéries aérobies, et d'après WOSTMANN (210) pour la plus grande part en relation avec l'existence du volumineux caecum. La caecectomie rétablit le métabolisme de base à des valeurs presque aussi importantes que celles des rats holoxéniques et il en est de même de la circulation sanguine. On peut donc penser que cette diminution de la circulation sanguine est à l'origine de la diminution du métabolisme de base. Les observations concernant l'activité de la thyroïde et la teneur de l'iode hormonale au niveau du sang ne sont pas incompatibles avec cette explication du phénomène. L'augmentation de la teneur du sang en iode hormonale chez l'axénique, peut apparaître comme une action compensatrice de la diminution de la circulation sanguine et la plus faible activité de la thyroïde s'expliquerait par le fait que la fixation de l'iode est réglée par le taux d'iode hormonale dans le sang. Enfin, la présence d'une quantité plus importante de l'hormone au niveau du sang et une activité de synthèse plus faible au niveau de la thyroïde pourrait s'expliquer par une action d'épargne de l'hormone dans les conditions de vie axénique, en particulier par une diminution des pertes au niveau du cycle entérohépatique.

Renouvellement plus lent de l'épithélium intestinal, transit intestinal plus lent, métabolisme de base réduit, circulation sanguine ralentie, "clearance" hépatique moins rapide : l'animal axénique semble vivre une vie ralentie. "La vie" ..... n'est pas ..... "plus active ni plus facile ....." en l'absence ..... des "microbes communs". Par contre, la composition globale de cet organisme est apparemment peu différente, sauf en ce qui concerne les minéraux qui sont en quantité plus importante chez le sujet axénique. ( 28,67 )





Quant à la croissance, elle n'est pas nettement modifiée en l'absence de flore. La comparaison que nous présentons entre rats axéniques et rats holoxéniques n'a de sens que dans la mesure où aucun processus pathologique évolutif n'existe chez ces derniers. L'évolution à bas bruit de tels processus (160) est très fréquente et aboutit à une réduction très importante de la croissance. Nos résultats diffèrent de ceux de GORDON (76) qui observe une différence plus importante et très significative en faveur des rats polyxéniques, sans que nous sachions s'il s'agit de sujets holoxéniques ou de sujets hétéroxéniques. Les résultats obtenus par GORDON suggèrent que la croissance du rat peut être améliorée par association avec une flore intestinale favorable à l'hôte, alors que ceci n'est observé ni avec nos rats holoxéniques, ni même avec nos rats hétéroxéniques.

### - C O N C L U S I O N S -

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Le rat axénique diffère du rat holoxénique par le développement anormal de son caecum, le ralentissement du renouvellement de l'épithélium intestinal, du transit gastro-intestinal, la diminution du métabolisme de base, de la "clearance" hépatique. Par contre, la composition corporelle et la croissance pondérale semblent peu modifiées.

La distension caecale constitue une source de difficultés dans les études nutritionnelles. Elle fausse les estimations pondérales, contribue à modifier le transit intestinal, la vitesse du renouvellement de l'épithélium intestinal, le métabolisme de base et la circulation sanguine. Il apparaît difficile de remédier à cette anomalie en ensemencant le rat axénique avec un petit nombre de bactéries. La caecectomie fait disparaître certains caractères du rat axénique comme la diminution de la circulation sanguine ou du métabolisme de base (210). Mais elle ne fait pas disparaître d'autres caractères : par exemple, le ralentissement du transit au niveau de l'estomac. Enfin, elle fait apparaître des caractères nouveaux comme les irrégularités de la morphologie des villosités intestinales, la modification du renouvellement de l'épithélium intestinal, l'accélération de l'excrétion fécale et peut-être une augmentation de la coprophagie.

Il est donc difficile de rendre le rat axénique plus comparable au rat holoxénique. Le nutritionniste, dans les comparaisons qu'il établit entre ces types de sujets, afin d'apprécier l'action de la flore microbienne sur un caractère donné de la nutrition, doit tenir compte dans l'interprétation des résultats, des différences que nous venons de citer, et doit être averti de ce que bien d'autres différences existent sans doute, qui n'ont pas encore été clairement mises en évidence.





— ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ — ♀ —

## A P P A R E N T E     D E S     L I P I D E S     A L I M E N T A I R E S

# INTRODUCTION

— : — : — : — : — : — : —

## Influence de la flore microbienne sur la digestibilité des lipides alimentaires

La flore microbienne du tube digestif exerce une action défavorable sur la digestibilité des lipides. EVRARD et coll., (57), rapportent que les rats axéniques, qui reçoivent un régime contenant 6 p. 100 d'huile de maïs excrètent moins de graisses fécales que les rats holoxéniques : 1,90 mg de graisses fécales par gramme de nourriture ingérée chez les premiers, contre 2,74 chez les seconds. Dans les fèces des rats axéniques, la proportion des acides gras libres est plus élevée et la proportion des acides saturés est plus faible.



YOSHIDA et coll. (214) rapportent que la digestibilité de l'huile de maïs est meilleure chez le lapin axénique : le coefficient d'utilisation digestive apparente est de 93,4 pour cent chez le lapin axénique, et de 89,5 pour cent chez le lapin holoxénique. La digestibilité de l'huile de maïs est donc meilleure en l'absence de flore microbienne, mais cette différence est faible. Selon TENNANT et coll., (188) l'utilisation digestive apparente de l'acide oléique ou de la trioléine n'est pas améliorée chez le rat axénique.

BOYD et EDWARDS (20) montrent que, chez le poulet, la digestibilité de la matière grasse est améliorée en l'absence de flore microbienne, mais que cette amélioration est beaucoup plus considérable avec une graisse saturée (suif) qu'avec une graisse insaturée (huile de maïs). Le coefficient d'utilisation digestive est respectivement 87,6 pour cent chez les poulets axéniques, et 85,6 pour cent chez les poulets polyxéniques, quand le régime alimentaire comprend 6 p. 100 d'huile de maïs, contre 85,1 pour cent chez le poulet axénique et 75 pour cent chez les poulets polyxéniques, quand la ration contient 6 pour cent de suif.

La flore microbienne du tube digestif ne modifie pas l'activité lipasique (120, 151), mais modifie les acides biliaires (87, 91) : elle les déconjugue (98, 109, 135, 173), forme des cétones en 3, 7, 12, les déshydroxyle en 7 (129, 130). KELLOG et WOSTMANN (111) montrent que, dans les fèces du rat axénique, l'acide bêta-muricholique représente 60 pour cent des acides biliaires totaux. La bile du rat axénique contiendrait essentiellement les acides alpha-muricholique, cholique, bêta-muricholique et chénodésoxycholique (100).

Malabsorption des lipides alimentaires sous l'influence d'une prolifération anormale de la flore microbienne de l'intestin grêle. Syndrome de l'anse aveugle.

L'intestin grêle de l'homme qui, dans les conditions normales, est très pauvre en bactéries (70), peut, dans certaines circonstances pathologiques, être envahi par une flore microbienne abondante (185). Cette prolifération bactérienne est le résultat d'une stase, le plus souvent locale. Elle s'accompagne d'une série de troubles de l'absorption réunis sous l'appellation de syndrome de l'anse aveugle (185) ou syndrome de l'anse stagnante (158), parmi lesquels le symptôme de stéatorrhée est l'un des plus importants.

La formation d'un cul de sac au niveau du jéjunum du rat ou du chien, orienté de telle manière que le péristaltisme tende à le remplir permet de reproduire les troubles observés chez l'homme et fournit un modèle expérimental qui permet l'étude de ce syndrome. Ces faits ont été évoqués au chapitre I.





Nous avons vu, au cours de ce chapitre, que la formation d'une anse aveugle au niveau du jéjunum du rat holoxénique transforme complètement la flore de l'intestin grêle, qui devient semblable à celle du caecum. Ces modifications n'épargnent pas le segment de l'intestin grêle situé en amont de l'anse et s'étend, en fait, à la totalité du tube digestif, de l'estomac au caecum. La comparaison de ces transformations avec celles que l'on observe lors de déviations biliaires permet de penser que les modifications de la microflore sont le résultat non seulement de la stase, mais aussi des multiples interactions qui s'exercent entre la bile, les bactéries et l'hôte. (167)

Diverses hypothèses sont proposées pour expliquer la stéatorrhée. Aucun auteur n'observe d'altérations de la muqueuse intestinale, décelables au microscope optique (100, 175). Aucun auteur (50, 100, 114) n'observe de diminution de la lipolyse. HOET et coll. (99, 100) observent que les fèces excrétées par le rat qui présente de la stéatorrhée sont anormalement riches en acide stéarique (43 % contre 23 % chez les sujets non opérés témoins) et sont appauvries en acide oléique et linoléique. De plus, quand ils donnent à ces rats une huile riche en acide érucique, les fèces contiennent 6 % d'acide béhénique, produit d'hydrogénation de l'acide érucique. Ils forment l'hypothèse que la malabsorption est le résultat d'une saturation des acides gras insaturés sous l'action de la flore qui a envahi l'intestin grêle, et de la mauvaise absorption des acides saturés ainsi formés.

DONALDSON (50), attire l'attention sur les faits suivants : le contenu intestinal des rats pourvus d'un cul de sac inhibe l'absorption et l'estérification de l'acide oléique  $C_{14}$  par la muqueuse intestinale in vitro : l'acide désoxycholique produit le même résultat à des doses inférieures à 0,5 micromole par ml, doses qui ne produisent pas de destruction apparente de la muqueuse intestinale.

DIETSCHY (45) mesure in vitro l'estérification des acides gras par des tranches de jéjunum prélevées sur des rats dont l'intestin grêle a été perfusé par des solutions d'acides biliaires, et établit qu'il est nécessaire que la concentration du taurocholate soit réduite pour que l'acide désoxycholique puisse inhiber l'estérification des acides gras au sein de l'entérocyte.

KIM et coll. (114), mettent en évidence que chez le chien porteur d'une anse aveugle qui présente de la stéatorrhée, la phase micellaire lipidique diminue, le pourcentage des acides biliaires libres est plus important que chez les témoins; quand une anse aveugle est isolée, et que de la bile y est introduite, les acides biliaires sont déconjugués, et il se forme des acides dihydroxylés et monohydroxylés.



MIDVEDT et coll. (131) montrent que chez le rat porteur d'une anse aveugle, le nombre des bactéries capables de déconjuguer les acides biliaires, de les déshydroxyler en 7, de former des cétones en 3 et 7 augmentent au niveau de l'anse aveugle et de l'iléon.

TABAQCHALI et coll. (186) mesurent, en différents points de l'intestin grêle de patients qui souffrent du syndrome de l'anse aveugle, la concentration des acides biliaires conjugués, et montrent que celle-ci est abaissée chez ceux d'entre eux qui présentent le symptôme de stéatorrhée, en même temps qu'existe une concentration d'acide désoxycholique "potentiellement toxique" pour la muqueuse intestinale.

#### Remarques concernant l'étude bibliographique

1 - Chez le rat holoxénique, la flore microbienne diminue davantage l'absorption apparente des lipides saturés que celle des lipides insaturés. Chez le rat holoxénique porteur d'une anse aveugle, seule l'absorption des matières grasses insaturées a été étudiée : huile de maïs (50, 58, 99, 100), huile de colza (99), huile de tournesol (114).

2 - L'influence de la flore intestinale sur la formation des savons insolubles de calcium n'a pas été étudiée.

3 - Dans le syndrome de l'anse aveugle, la flore intestinale provoque simultanément des effets multiples : saturation des acides gras, déconjugaison des acides biliaires, formation d'acides biliaires toxiques. Ceci conduit les auteurs à proposer diverses hypothèses pour expliquer la pathogénie de la stéatorrhée, sans pouvoir distinguer les rôles respectifs et sans pouvoir apporter la preuve expérimentale confirmant ou infirmant chacune de ces hypothèses.

#### Définition des recherches poursuivies

Nous nous sommes proposé de rechercher l'influence qu'exerce la flore microbienne gastro-intestinale sur la digestibilité des matières grasses qui contiennent une proportion importante d'acides gras saturés et sur la formation des savons insolubles, en comparant les rats axéniques aux rats holoxéniques.

Nous nous sommes proposés d'étudier comment la flore microbienne, dans le syndrome de l'anse aveugle, détermine une malabsorption des graisses. Dans ce but, ce syndrome a été reproduit chez des rats holoxéniques. Tenant compte des indications fournies par l'étude microbiologique, (p.14), nous avons reproduit la malabsorption des lipides en formant un cul de sac jéjunal chez des rats axéniques et en établissant, dans le tractus digestif de ces sujets, des souches





bactériennes isolées au préalable des sujets holoxéniques. Ceci, dans l'espoir que, chez ces rats gnotoxéniques, les diverses modifications, qui sont observées simultanément chez le rat holoxénique, se produiraient isolément, et qu'ainsi pourrait être apportée la démonstration expérimentale de leur rôle dans l'établissement de la stéatorrhée.

Ces études ont fait l'objet de diverses publications : 39, 40, 41, 42, 162, 163, 165.

## M A T E R I E L   E T   M E T H O D E S

--:--:--:--:--:--:--:--:--

### SUJETS D'EXPERIENCE - REGIMES ALIMENTAIRES - PRELEVEMENTS DES FECES

Les sujets utilisés dans l'étude de l'influence de la flore microbienne sur la digestibilité des lipides alimentaires dans des conditions normales sont des rats Fischer mâles, âgés de quelques semaines, c'est à dire pris pendant leur période de croissance maximale.

Les sujets utilisés dans l'étude de la malabsorption des lipides sont des rats C.F. âgés de quatre mois au moins et dont le poids varie de 350 à 500 grammes.

Cinq régimes alimentaires sont utilisés : le régime S.N. et les régimes I, II, III et IV. Ceux-ci ont la composition pondérale suivante : caséïne 177, amidon de maïs 567, cellulose 54, sels minéraux 48, mélange vitaminique et méthionine 21, matières grasses 133. Les matières grasses du régime I sont constituées, en poids, d'huile de coprah 20, de colza 20, de coton, 10, de colza hydrogéné 20, et de beurre de cacao 20; celles du régime II : d'huile de coprah 25, de coton 25 et de beurre de cacao 50; celles du régime III : de beurre de cacao 12 et d'huile de coton 1; celles du régime IV : d'huile de colza. La composition du régime S.N. est indiquée page 7. La composition en acides gras des matières grasses de ces cinq régimes est donnée dans le tableau XXIX.

Les sujets qui sont pourvus d'une anse aveugle continuent à recevoir le régime d'élevage jusqu'à la fin de leur convalescence. Ces sujets et leurs témoins non opérés sont ensuite placés dans des cages individuelles pourvues de grilles qui permettent une collecte facile des fèces, et reçoivent le régime d'expérience pendant au moins quinze jours avant toute collecte des fèces.





TABLEAU XXIX - Composition en acides gras des matières grasses  
des divers régimes : % des esters méthyliques

| Aliment | C <sub>12</sub> | C <sub>14</sub> | C <sub>16</sub> | C <sub>18</sub> | C <sub>18-1</sub> | C <sub>18-2</sub> | C <sub>18-3</sub> | C <sub>20</sub> | C <sub>20:1</sub> | C <sub>22</sub> | C <sub>22:1</sub> | ? (1) |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------|
| I       | 15,5            | 6,8             | 12,7            | 16,5            | 15,7              | 9,8               |                   | 4,6             |                   | 8,4             | 10                |       |
| II      | 15,4            | 6,2             | 23,6            | 19,8            | 29,3              | 5,7               |                   |                 |                   |                 |                   |       |
| III     |                 |                 | 26,3            | 32,7            | 33,6              | 7,4               |                   |                 |                   |                 |                   |       |
| IV      |                 |                 | 3,6             | 2,2             | 12,6              | 15,1              | 7,2               |                 | 8,1               |                 | 50,3              | 0,9   |
| S.N.    |                 |                 | 14,3            | 2,7             | 33,8              | 45                | 2,1               | 0,4             | 1,7               |                 |                   |       |

(1) ? = indéterminé

Les rats axéniques ou gnotoxéniques dont le tractus digestif estensemencé par des cultures bactériennes ne font, de même, l'objet d'aucune récolte avant au moins quinze jours.

Les fèces sont collectées chaque jour. Dans les expériences faites avec le régime S.N., les analyses sont faites sur des échantillons qui correspondent à quatre jours de collecte. Dans les expériences faites avec les régimes I à IV, les analyses sont faites sur des échantillons correspondant à une semaine de collecte. Dans toutes les expériences, l'échantillon analysé correspond à l'excrétion d'un individu, sauf dans le cas des expériences faites avec le régime II, dans lesquelles les collectes de 3 rats sont groupées.

#### METHODES DE DOSAGE DES LIPIDES FECAUX

Dans les expériences faites avec le régime S.N., la graisse fécale est mesurée par la méthode de Van de KAMER (196).

Dans les expériences faites avec les régimes I à IV, la graisse fécale est mesurée par la méthode de Toullec et coll. (194). Cette méthode consiste à extraire séparément à froid les lipides libres ou liés aux protéines, d'une part, et ceux des complexes insolubles constitués essentiellement de savons, d'autre part. La première fraction dite "fraction soluble" est extraite par le mélange chloroforme-méthanol selon le principe de la méthode de FOLCH et coll. (55).



Les acides gras de la seconde fraction, dite "fraction insoluble", sont libérés du résidu laissé par l'extraction précédente par l'acide chlorhydrique et extraits par l'éther de pétrole.

Les résultats sont exprimés, dans le cas des expériences de digestibilité faites avec le régime I et II par le coefficient d'utilisation digestive apparente, ou C.U.D. :

$$\text{C.U.D.} = \left( 1 - \frac{\text{quantité de matières grasses excrétées}}{\text{quantité de matières grasses ingérées}} \right) \times 100$$

Dans les expériences où c'est la malabsorption des lipides alimentaires qui est étudiée, ils sont exprimés par le pourcentage de matières grasses fécales (M.G.F.) par rapport à la quantité de matières grasses ingérées :

$$\text{M.G.F.} = \frac{\text{quantité de matières grasses excrétées}}{\text{quantité de matières grasses ingérées}} \times 100$$

## CHROMATOGRAPHIE DES ESTERS METHYLIQUES DES ACIDES GRAS

Les extraits obtenus, soit par la méthode de van de Kamer, soit par la méthode de Toullec, ont servi à la préparation des esters méthyliques des acides gras. Ceux-ci sont analysés par chromatographie en phase gazeuse, sur colonne de succinate de diéthylène glycol fixé sur support chromosorb. Dans les expériences où la matière grasse ingérée est l'huile de maïs, la colonne est maintenue à 170° et le gaz vecteur est de l'hélium; dans les autres expériences la température est de 160° et le gaz vecteur, l'azote. Ces variations techniques proviennent de ce que ces deux séries d'expériences ont été faites en utilisant les chromatographes de deux laboratoires différents.

## METHODES D'ANALYSE DES ACIDES BILIAIRES

### I - Considérations générales

Le propos des études sur les acides biliaires est de déterminer s'il existe une relation entre l'augmentation de l'excrétion fécale de graisse, la diminution de la quantité des acides biliaires conjugués présents dans l'intestin grêle du rat, la formation d'acide désoxycholique ou lithocholique.

Il n'existe aucune méthode satisfaisante qui permette de séparer les acides biliaires libres des acides biliaires conjugués et de les doser. La séparation faite en utilisant des solvants, et en particulier, l'emploi de l'acétate d'éthyle pour extraire les acides biliaires libres des solutions aqueuses acidifiées à pH 2, est un procédé imparfait, car il extrait aussi les acides biliaires conjugués à la glycine. (55). Il est possible d'obtenir une séparation satisfaisante des acides libres d'avec les acides conjugués par chromatographie en couche mince sur gel de silice selon la technique d'HOFMANN (102). Mais l'élu-





tion des acides biliaires du gel de silice donne des résultats variables et irréguliers d'un acide à l'autre. L'élution des acides biliaires non méthylés des gels de silice est toujours incomplète et se fait avec des rendements de 50 à 70 % (55). Parmi les différentes techniques (élution au méthanol, avec l'acétate d'éthyle, l'éthanol, l'éthanol chlorhydrique), il nous est apparu qu'il était possible d'obtenir des éluions des acides taurocholique et cholique avec une régularité satisfaisante en faisant agir l'éthanol bouillant à reflux pendant seize heures. Dans des séries d'élution portant sur des quantités qui variaient de 0,1 à 0,6 micro-mole par tache, nous avons obtenu :

|                         | % retrouvé moyen | nombre d'essais | écart-type |
|-------------------------|------------------|-----------------|------------|
| Acide cholique .....    | 68,3             | 15              | 5,3        |
| Acide taurocholique ... | 66,5             | 15              | 4,7        |

Après élution d'une tache il y a une probabilité 95 % que le pourcentage retrouvé ne s'écarte pas de ce pourcentage moyen, de plus de  $\pm 10$  % environ.

L'élution des acides biliaires méthylés se fait avec un rendement de 100 %. Mais, d'une part, la méthylation suppose une purification préalable des échantillons, d'autre part, il n'existe pas de système chromatographique connu qui sépare les acides biliaires méthylés conjugués d'avec les libres.

Les techniques de purification des acides biliaires en vue de leur séparation chromatographique présentent de nombreuses imperfections, sur lesquelles ENEROTH et SJOVALL attirent l'attention (155). Ces auteurs font, en particulier, remarquer la possibilité d'artéfacts au cours de l'hydrolyse alcaline, la perte des composés les moins polaires au cours de la séparation des lipides neutres par l'éther de pétrole. L'emploi d'un témoin interne ne permet pas d'apprécier les pertes subies par les différents acides biliaires au cours des manipulations.

L'ensemble de ces considérations nous a conduit à utiliser la méthode suivante.

## II - Méthode d'analyse

Dans un premier temps, on détermine les quantités d'acide taurocholique et, à titre indicatif, d'acide cholique présentes dans l'intestin grêle. L'aptitude des bactéries, mises en jeu dans ces expériences, à déconjuguer in vitro le taurocholate a été recherchée par la technique de HILL et DRASAR (98), à cette différence près que la séparation chromatographique a été faite selon la technique de HAMILTON (96) qui a l'avantage de séparer les acides biliaires libres de telle manière qu'il est possible de mettre en évidence l'acide désoxycholique. Cette



technique utilise le mélange de solvants : isooctane/éther isopropylique/ acide acétique : 50/25/25, et des couches minces de gel de silice de 0,25 mm. Dans un deuxième temps, les prélèvements les plus intéressants sont soumis à une analyse plus complète dans le but d'établir la proportion d'acide cholique par rapport à l'ensemble des acides biliaires, et de rechercher la présence des métabolites bactériens.

### Prélèvements

Les intestins grêles sont divisés en quatre segments. Les rats sont sacrifiés entre 22 et 24 heures, alors qu'ils sont en état de réplétion digestive.

Le premier segment correspond à la partie de l'intestin grêle située en avant de l'anse aveugle, les trois segments suivants correspondent chacun à 1/3 de la partie de l'intestin grêle située après l'anse aveugle. Chaque segment est broyé dans l'éthanol absolu et soumis pendant 16 heures à une extraction par l'alcool bouillant à reflux.

### Dosage des acides taurocholique et cholique

L'extrait éthanolique est concentré par évaporation sous vide et repris dans le plus petit volume de méthanol qui assure une solubilisation complète de l'extrait. Une partie aliquote est utilisée pour séparer les acides taurocholique et cholique par chromatographie préparative sur plaque de Silicagel, de 2 mm d'épaisseur en utilisant le mélange de Hofmann : acide propionique / acétate d'iso-amyle / eau / n-propanol = 15/20/5/10 (102).

Pour chaque plaque chromatographique deux séries de témoins sont utilisées : 1° - des standards connus d'acide taurocholique et cholique, qui servent à repérer les positions de ces acides biliaires et donc les zones qu'il conviendra de prélever, et un échantillon de la préparation en cours d'analyse de façon à s'assurer que la migration des acides biliaires des échantillons n'est pas différente de celle de standards. Ils sont révélés par pulvérisation d'acide sulfurique au tiers, le reste de la plaque étant protégée, chauffage au four à 125 ° pendant quinze minutes, et examen en lumière ultraviolette à 360 nm. 2° - des quantités connues d'acide taurocholique et cholique qui sont prélevées et éluées pour vérifier que les conditions d'élution sont conformes à ce qui est attendu. Les éluations sont faites par la technique précédemment décrite. Les quantités d'acide taurocholique et cholique sont mesurées par la réaction d'Irwin (107). L'absorption est mesurée au spectrophotomètre Jobin et Yvon à 660 nm.





Pour chaque série de mesures, quatre courbes-étalons sont établies:

- 1) les deux premières avec des quantités connues de cholate et de taurocholate,
- 2) les deux autres avec les mêmes quantités de cholate et de taurocholate qui ont subi la chromatographie sur Silicagel, et ont été éluées dans les mêmes conditions que les échantillons étudiés. Ce procédé permet d'apprécier les pertes au cours de l'élution.

Il a été vérifié que, parmi les acides biliaires isolés de la bile du rat, seuls les acides cholique, taurocholique et glycocholique donnent la réaction d'Irwin et ont le même coefficient d'absorption molaire. Les acides muricholiques, en particulier, ne donnent pas cette réaction. L'absence de fausses réactions positives, avec des substances autres que l'acide cholique, a été recherchée, en constatant : a) l'absence de réaction au niveau de l'acide cholique chez le rat axénique. b) l'apparition d'une quantité d'acide cholique sensiblement équivalente à celle de l'acide taurocholique mesurée après saponification. c) l'absence de réaction au niveau de l'acide taurocholique chez les rats porteurs d'une fistule cholédoque-vessie urinaire.

#### Intérêt de cette méthode

Cette méthode permet de doser l'acide cholique et l'acide taurocholique en réduisant au minimum les manipulations et donc en évitant les pertes qui accompagnent les opérations de purification des acides biliaires. Elle tient en particulier compte de la difficulté qu'il y a à éluer d'une manière quantitative les acides biliaires non méthylés des gels de silice. Elle ne peut être appliquée que pour des prélèvements qui contiennent des quantités importantes d'acide cholique parce que l'échantillon n'étant pas purifié avant chromatographie doit être fortement dilué et parce que les mesures deviennent imprécises au-dessous de 50  $\mu$ g par tache. Cette technique est d'une grande simplicité et permet d'accomplir de nombreuses analyses.

#### Analyse qualitative et quantitative des acides biliaires autres que les acides taurocholique et cholique

##### 1) Acides biliaires totaux

Cette méthode a été utilisée pour analyser les acides biliaires de la bile ou des contenus intestinaux. L'extract éthanolique des contenus intestinaux est obtenu comme précédemment. La bile est recueillie pendant les deux premières heures qui suivent le cathétérisme du canal cholédoque, diluée au cinquième dans l'éthanol, soumise à une heure d'ébullition à reflux de façon à précipiter les protéines, qui sont éliminées par centrifugation.





a) - Purification des extraits éthanoliques

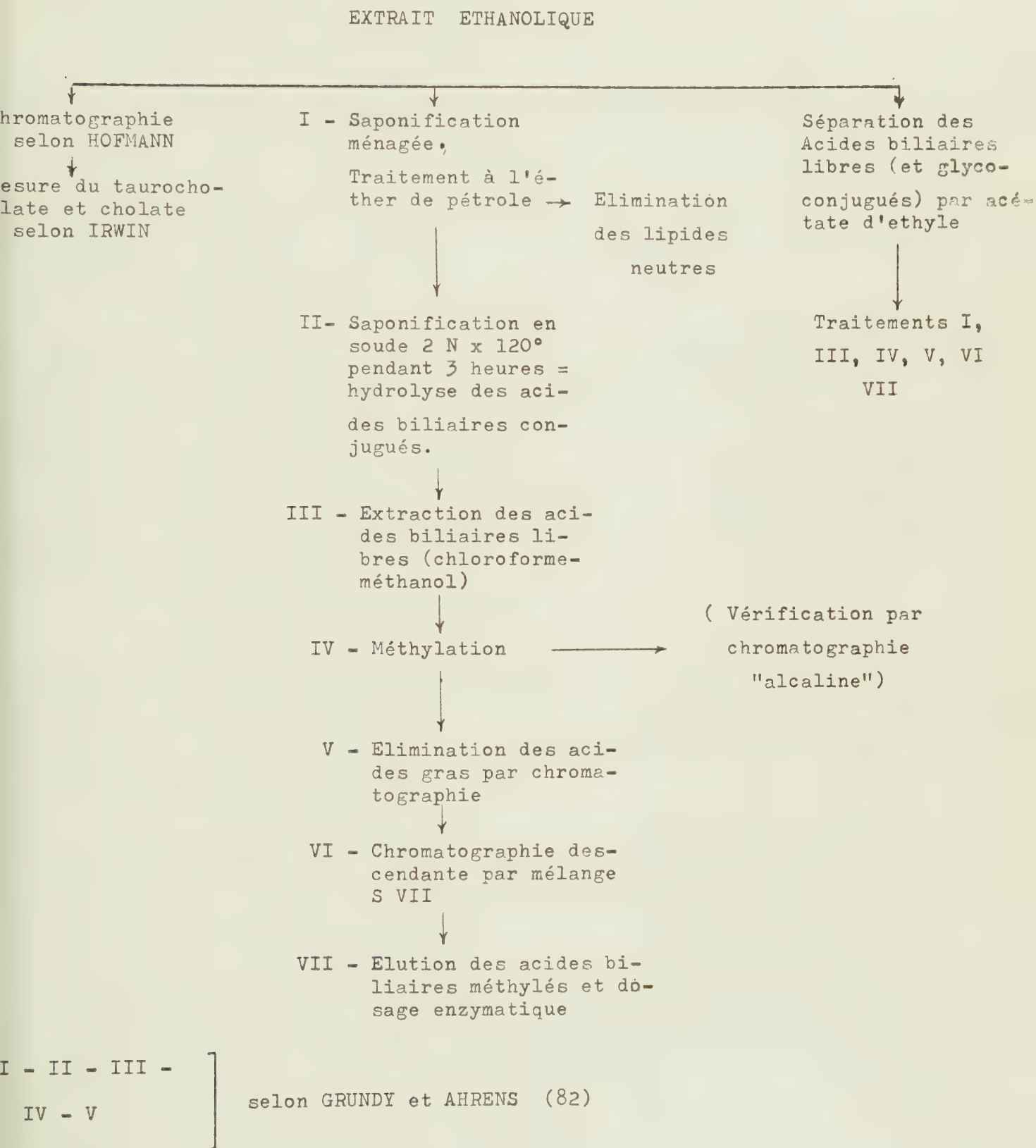
L'extrait éthanolique est purifié par la méthode de GRUNDY et de AHRENS (82), dont les principaux temps sont présentés dans le tableau XXX. Quelques modifications ont été apportées à cette technique : 1 - la saponification est faite en pots de téflon, car, selon certains auteurs, une partie des acides biliaires, au cours de cette opération se fixerait sur l'acide silicique du verre. 2 - la méthylation est faite non par le méthanol chlorhydrique, mais par le diazométhane selon la technique de CROTTE et coll. (35). 3 - Il a été trouvé nécessaire de vérifier que la méthylation des acides biliaires était complète. Nous avons pour cela utilisé la chromatographie alcaline en couche mince, sur gel de silice, d'une partie aliquote de la préparation, selon SUBBIAH et KUBSIS, l'éluant étant le mélange : chloroforme / méthanol / ammoniaque 12 N : 90 / 45 / 10 (182).

b) - Chromatographie des acides biliaires méthylés

Les esters méthyliques sont soumis à une chromatographie descendante en couche mince sur silicagel G (Merck) à l'aide du mélange S VII de HOFMANN : méthanol / acétone / chloroforme : 5/25/70 (103) en utilisant des plaques de 45 x 19 cm et une épaisseur de gel de 0,5 mm. Chaque chromatographie est faite en présence de standards connus, dont les migrations chromatographiques par rapport à l'ester méthylique de l'acide cholique, ou  $R_c$ , sont indiquées entre parenthèses : ester méthylique des acides cholique (1,00), hyocholique (1,90), hyodésoxycholique (3,00), 7-céto, 3,12 - alpha - dihydroxy, 5 - bêta - cholanique (3,30), chénodésoxycholique (3,80), désoxycholique (4,31), ursodésoxycholique (4,56), lithocholique (5,82). En outre, une partie aliquote de la préparation étudiée est déposée de chaque côté de la plaque de façon à obtenir une même charge par unité de surface que la préparation et vérifier ainsi que la migration est identique à celle des standards. Les témoins sont révélés et examinés comme précédemment. Cet examen permet de définir les surfaces de gel qu'il convient de prélever. Le gel est broyé et élué dans des colonnes par un volume suffisant de méthanol purifié (50 à 100ml). L'identification des esters méthyliques des divers acides biliaires est faite grâce à l'emploi des standards précédemment cités. En éluant par le méthanol les divers composés et en rechromatographiant dans le système isooctane / éther isopropylique / acide acétique : 50/25/32, il a été possible de définir les composés trihydroxylés, dihydroxylés et monohydroxylés. L'identification des acides muricholiques a été faite en se rapportant aux données de la littérature (103,133). L'identification de l'acide bêta-muricholique n'est pas douteuse, en raison de l'importance de cet élément chez les rats axéniques. L'élément n°2 est très vraisemblablement l'acide alpha-muricholique. L'élément n°3 serait l'acide trihydroxylé en 3-alpha, 7-bêta, 12-alpha. En effet,



TABLEAU XXX - Techniques de séparation et de dosage des acides biliaires



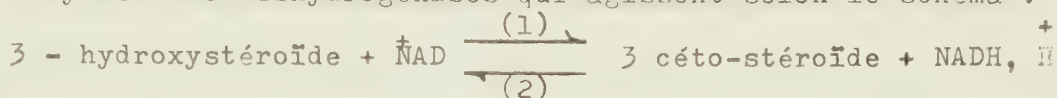




cet élément n°3 devient plus important quand on administre au rat l'acide 3,12-alpha-dihydroxylé, 7-cétonique, et il est connu que le foie du rat transforme cet acide 7 cétonique en acide 7 bêta-hydroxylé. (90).

### c) - Dosage enzymatique des acides biliaires

Le principe de ce dosage consiste à utiliser une préparation enzymatique de 3-hydroxystéroïde déshydrogénases qui agissent selon le schéma :



Pour obtenir une réaction complète dans le sens (1), la cétone formée est piégée par l'hydrate d'hydrazine. Le dosage du NADH, H<sup>+</sup> formé permet donc de connaître la quantité de 3-hydroxy-stéroïde présente dans la réaction.

La préparation enzymatique est faite à partir d'un lyophilisat de Pseudomonas testosteroni, selon la technique de STEMPFEL et SIDBURY (179). Cette préparation n'est pas purifiée et contient à la fois de la 3-alpha et de la 3-bêta hydroxystéroïde déshydrogénase et d'autres enzymes en particulier de l'alcool déshydrogénase. L'activité de cette préparation est mesurée selon la technique décrite par R.H. PALMER (137), et les échantillons d'acides biliaires purifiés par la méthode précédemment exposée sont mesurés selon la technique de STEMPFEL et SIDBURY (179).

### 2 - Acides biliaires libres

L'analyse chromatographique de la bile selon la technique de HOFMANN et la mesure par la technique d'IRWIN, permettent de conclure que la bile des rats C.F. qui reçoivent le régime S.N. ne contient que très peu de cholate conjugué à la glycine : 1 % du cholate est conjugué sous cette forme chez l'axénique, 2,6 % chez l'holoxénique (tableau XXXI)

**TABEAU XXXI -Concentrations de taurocholate et de glycocholate dans la bile des rats C.F. axéniques et holoxéniques.**

| Type de rats     | Taurocholate<br>(micromoles / ml) | Glycocholate<br>(micromole / ml) |
|------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| C.F. Axénique    | 26,4                              | 0,28                             |
| C.F. Holoxénique | 10,9                              | 0,29                             |

L'examen par chromatographie alcaline montre que les acides biliaires conjugués se méthylent très partiellement par la technique de CROTTE et coll. Enfin, dans le système chromatographique que nous utilisons, les acides biliaires conjugués à la glycine restent à l'origine, le glycocholate de méthyle s'écarte peu de l'origine : R<sub>c</sub> = 0,22. Il serait possible de déceler la présence des glyco-conjugués sur les chromatogrammes si ceux-ci étaient présents en quantité abondante.



Il est donc possible d'employer la technique à l'acétate d'éthyle pour séparer les acides biliaires libres et de purifier ceux-ci selon la technique de GRUNDY et AHRENS, en omettant la saponification (voir tableau XXX). La séparation chromatographique et le dosage enzymatique sont faites comme pour les acides biliaires totaux.

### Avantages et inconvénients de cette méthode

L'avantage principal de cette méthode est qu'elle permet une séparation des acides trihydroxylés qui, à notre connaissance n'est égalée par aucune autre technique et une séparation des acides dihydroxylés et monohydroxylés qui est excellente. En particulier, il est possible de distinguer l'acide désoxycholique et l'acide lithocholique.

L'inconvénient est que la technique ne détecte pas les acides biliaires porteurs en 3 d'une fonction cétone. Elle présente tous les inconvénients des techniques classiques de purification des acides biliaires.

## TECHNIQUES ET METHODES DIVERSES

Les techniques bactériologiques et chirurgicales ont été indiquées aux pages 7 et 8 du chapitre I et la façon d'exprimer les résultats à la page 33 du chapitre II.

→ : → : → : → : → : → : → : → : → : → :

INFLUENCE DE LA FLORE MICROBIENNE SUR LA DIGESTIBILITE  
DES LIPIDES DANS LES CONDITIONS NORMALES : COMPARAISON  
ENTRE LE RAT AXENIQUE ET LE RAT HOLOXENIQUE

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — :

Nous nous sommes proposé de déterminer l'influence de la flore microbienne du tractus digestif sur la digestibilité des matières grasses saturées des régimes I et II, et sur la formation des savons insolubles. Les régimes I et II contiennent 65 % d'acides saturés, et diffèrent en ce que le régime I contient des acides gras de plus de dix-huit carbones, alors que le régime II n'en contient pas (tableau XXIX).



## Protocole expérimental

Chaque régime fait l'objet d'une expérimentation portant sur six rats Fischer axéniques et six rats Fischer holoxéniques, au cours de la période de croissance maximale. L'expérience est poursuivie pendant deux semaines consécutives, et les échantillons sont récoltés comme il est indiqué p. 65. Les analyses portent donc sur 12 échantillons individuels dans le cas du régime I et sur 4 échantillons correspondant chacun à l'excrétion de 3 sujets dans le cas du régime II.

## Résultats

### 1° - Utilisation globale des matières grasses

Dans les deux expériences, les quantités de matières grasses ingérées par les axéniques et par les holoxéniques sont peu différentes (tableau XXXII, 1ère ligne). Chez les rats axéniques, le coefficient d'utilisation digestive apparente (tableau XXXII, 3ème ligne) est légèrement supérieur dans le cas du régime I et très nettement supérieur dans le cas du régime II.

### 2° - Utilisation digestive apparente des acides gras

Le tableau XXXIII rapporte les valeurs des coefficients d'utilisation digestive (C.U.D.) apparente des acides gras présents dans les deux régimes. Dans les deux cas, les différences les plus importantes des C.U.D. concernent les acides stéarique et palmitique. Dans le cas du régime I cependant, ces différences sont assez faibles alors que dans le cas du régime II, les C.U.D. des acides palmitique et stéarique sont très significativement plus élevés chez les rats axéniques que chez les rats holoxéniques. L'amélioration de la digestibilité de l'acide stéarique ne s'accompagne pas d'une diminution de la digestibilité de l'acide oléique, qui, au contraire, est légèrement améliorée.

### 3° - Forme d'excrétion fécale des matières grasses

Le tableau XXXII (4ème ligne) rapporte la quantité des graisses fécales contenues dans la fraction insoluble. L'excrétion des savons insolubles est plus importante en présence de flore intestinale. La synthèse de ces composés semble aussi être liée au type de matières grasses ingérées. C'est en effet, avec le régime I que les différences entre axéniques et holoxéniques sont les plus sensibles. Chez les axéniques (tableau XXXII, 6ème ligne) le





**TABLEAU XXXII** - Ingestion et excrétion de matières grasses dans les fécès chez les rats axéniques et holoxéniques qui reçoivent les régimes I et II. Moyenne et écart-type de la moyenne.

| Régime alimentaire                                                     | I           |              | II           |              |
|------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
|                                                                        | Axéniques   | Holoxéniques | Axéniques    | Holoxéniques |
| Rats                                                                   |             |              |              |              |
| Nombre de dosages                                                      | 12          | 12           | 4            | 4            |
| 1-Matières grasses ingérées<br>g / semaine                             | 10,6 ± 0,15 | 9,06 ± 0,53  | 21,33 ± 1,23 | 23,28 ± 2,64 |
| 2-Matières grasses excré -<br>tées : g/semaine                         | 2,87 ± 0,10 | 2,92 ± 0,29  | 2,68 ± 0,51  | 4,43 ± 0,41  |
| 3 - C.U.D. apparent                                                    | 72,7 ± 1,05 | 68,0 ± 1,41  | 87,7 ± 0,79  | 80,8 ± 1,13  |
| 4 - Fraction insoluble<br>g / semaine                                  | 0,57 ± 0,08 | 2,05 ± 0,22  | 1,30 ± 0,22  | 2,85 ± 0,19  |
| 5-Fraction insoluble p.100<br>de matières grasses<br>excrétées         | 19,8 ± 3,12 | 70,1 ± 1,44  | 49,4 ± 2,98  | 65,0 ± 2,30  |
| 6-Fraction insoluble excrétée<br>p.100 de matières grasses<br>ingérées | 5,3         | 22,3         | 5,9          | 12,5         |



TABLEAU XXXIII - Coefficients d'utilisation digestive apparente des principaux acides gras des régimes. Moyenne et écart-type de la moyenne.

| Régime alimentaire | I              |                   | II             |                  |
|--------------------|----------------|-------------------|----------------|------------------|
|                    | Axéniques      | Holoxéniques      | Axéniques      | Holoxéniques     |
| Rat                |                |                   |                |                  |
| C 12               | 92,1 $\pm$ 0,8 | 90,7 $\pm$ 0,8    | 96,3 $\pm$ 0,2 | 97,1 $\pm$ 0,2   |
| C 14               | 82,3 $\pm$ 2,6 | 79,2 $\pm$ 0,9    | 87,9 $\pm$ 1,0 | 85,5 $\pm$ 1,3   |
| C 16               | 63,0 $\pm$ 2,1 | 55,4 $\pm$ 1,85 S | 80,0 $\pm$ 1,3 | 68,2 $\pm$ 1,5 S |
| C 18               | 57,1 $\pm$ 1,5 | 50,0 $\pm$ 2,5 S  | 73,2 $\pm$ 3,0 | 57,5 $\pm$ 2,9 S |
| C 18 : 1           | 94,1 $\pm$ 2,6 | 90,9 $\pm$ 2,4 S  | 96,8 $\pm$ 0,1 | 95,1 $\pm$ 0,5 S |
| C 18 : 2           | 98,7 $\pm$ 0,4 | 99,7 $\pm$ 0,1    | 95,7 $\pm$ 1,6 | 96,1 $\pm$ 0,9   |
| C 20               | 55,4 $\pm$ 2,5 | 54,8 $\pm$ 2,7    |                |                  |
| C 22               | 12,6 $\pm$ 4,4 | 11,4 $\pm$ 5,3    |                |                  |
| C 22 : 1           | 65,5 $\pm$ 3,0 | 58,4 $\pm$ 6,3    |                |                  |

S = Différence significatives entre axéniques et holoxéniques





rapport :  $\frac{\text{Fraction insoluble excrétée}}{\text{Matières grasses ingérées}} \times 100$  varie peu selon le régime.

Ce rapport est beaucoup plus grand chez les holoxéniques qui reçoivent le régime I, que chez les holoxéniques qui reçoivent le régime II.

Le tableau XXXIV rapporte les quantités globales excrétées de chaque acide gras et les quantités de chaque acide gras excrété sous forme de savon insoluble. En ce qui concerne les premières, des différences significatives entre axéniques et holoxéniques ne sont mises en évidence que dans quelques cas : acide palmitique, stéarique, oléique des rats qui reçoivent le régime II. Par contre, en ce qui concerne les secondes, des différences significatives entre axéniques et holoxéniques apparaissent pour la plupart des acides gras. L'examen de ce tableau XXIV permet de calculer que la somme des savons insolubles correspondant aux acides qui ont dix-huit atomes de carbone et moins, est égale à 1,12 g chez les rats holoxéniques qui ont reçu le régime I et 2,79 g chez les rats holoxéniques qui ont reçu le régime II. Si on considère les quantités de matières grasses ingérées (tableau 1, 1ère ligne), il apparaît que le rapport :  $\frac{\text{Fraction insoluble excrétée}}{\text{Matières grasses ingérées}} \times 100$ , pour les acides de dix-huit atomes de

carbone et moins, a des valeurs très voisines de 12, chez ces deux groupes de rats holoxéniques. La valeur plus élevée de ce rapport, quand on considère l'ensemble des acides gras, chez les sujets holoxéniques qui reçoivent le régime I est due à la présence, dans les fèces, des savons insolubles qui correspondent aux acides gras dont les chaînes comptent plus de dix-huit atomes de carbone, acides gras, qui existent dans le régime I, et qui n'existent pas dans le régime II.

La figure 7 montre les variations des valeurs moyennes du rapport  $\frac{\text{Fraction insoluble}}{\text{Extrait total}} \times 100$  pour chaque acide gras en fonction du régime et selon la présence ou l'absence de flore intestinale.

Chez les rats holoxéniques ayant ingéré le régime I et chez les rats holoxéniques et axéniques ayant ingéré le régime II on note que, plus les acides gras saturés sont longs, plus ils ont tendance à être excrétés sous forme insoluble. Dans le cas des rats axéniques ayant ingéré le régime I, le phénomène n'apparaît pas.

Cependant, dans tous les cas, on note que, pour chacun des acides gras, une plus grande quantité est excrétée sous forme insoluble en présence de flore intestinale et ce, quelle que soit la matière grasse saturée ingérée.



TABLEAU XXIV - Quantité de chaque acide gras excrété en une semaine dans les fèces, chez les rats axéniques et chez les rats holoxéniques qui reçoivent les régimes I et II

E.T. = Extrait Total      F.I. = Fraction insoluble      Moyenne et écart-type de la moyenne.

| Régime            |      | I             |                    | II           |                |
|-------------------|------|---------------|--------------------|--------------|----------------|
| Flore microbienne |      | Axénique      | Holoxénique        | Axénique     | Holoxénique    |
| C 12              | E.T. | 0,13 ± 0,011  | 0,13 ± 0,08        | 0,12 ± 0,021 | 0,12 ± 0,07    |
|                   | F.I. | 0,21          | 0,05 ± 0,006       | 0,05 ± 0,019 | 0,05 ± 0,006   |
| C 14              | E.T. | 0,15 ± 0,012  | 0,13 ± 0,011       | 0,16 ± 0,027 | 0,21 ± 0,018   |
|                   | F.I. | 0,038 ± 0,005 | 0,07 ± 0,009 S (1) | 0,07 ± 0,01  | 0,12 ± 0,011 S |
| C 16              | E.T. | 0,49 ± 0,028  | 0,51 ± 0,045       | 1,02 ± 0,189 | 1,73 ± 0,160 S |
|                   | F.I. | 0,10 ± 0,016  | 0,35 ± 0,037 S     | 0,55 ± 0,11  | 1,10 ± 0,045 S |
| C 18              | E.T. | 0,73 ± 0,03   | 0,76 ± 0,073       | 1,17 ± 0,270 | 1,97 ± 0,210 S |
|                   | F.I. | 0,15 ± 0,021  | 0,60 ± 0,066 S     | 0,68 ± 0,150 | 1,37 ± 0,100 S |
| C 18 : 1          | E.T. | 0,11 ± 0,08   | 0,13 ± 0,015       | 0,18 ± 0,02  | 0,33 ± 0,033 S |
|                   | F.I. | 0,02 ± 0,003  | 0,057 ± 0,009 S    | 0,05 ± 0,008 | 0,15 ± 0,024 S |
| C 18 : 2          | E.T. |               |                    | 0,03         | 0,06 ± 0,016   |
|                   | F.I. |               |                    |              |                |
| C 20              | E.T. | 0,21 ± 0,013  | 0,18 ± 0,021       |              |                |
|                   | F.I. | 0,05 ± 0,008  | 0,15 ± 0,019 S     |              |                |
| C 22              | E.T. | 0,74 ± 0,037  | 0,68 ± 0,067       |              |                |
|                   | F.I. | 0,16 ± 0,027  | 0,55 ± 0,069 S     |              |                |
| C 22 : 1          | E.T. | 0,34 ± 0,025  | 0,40 ± 0,067       |              |                |
|                   | F.I. | 0,045 ± 0,08  | 0,19 ± 0,035 S     |              |                |

(1) - S = Différence significative entre axénique et holoxénique



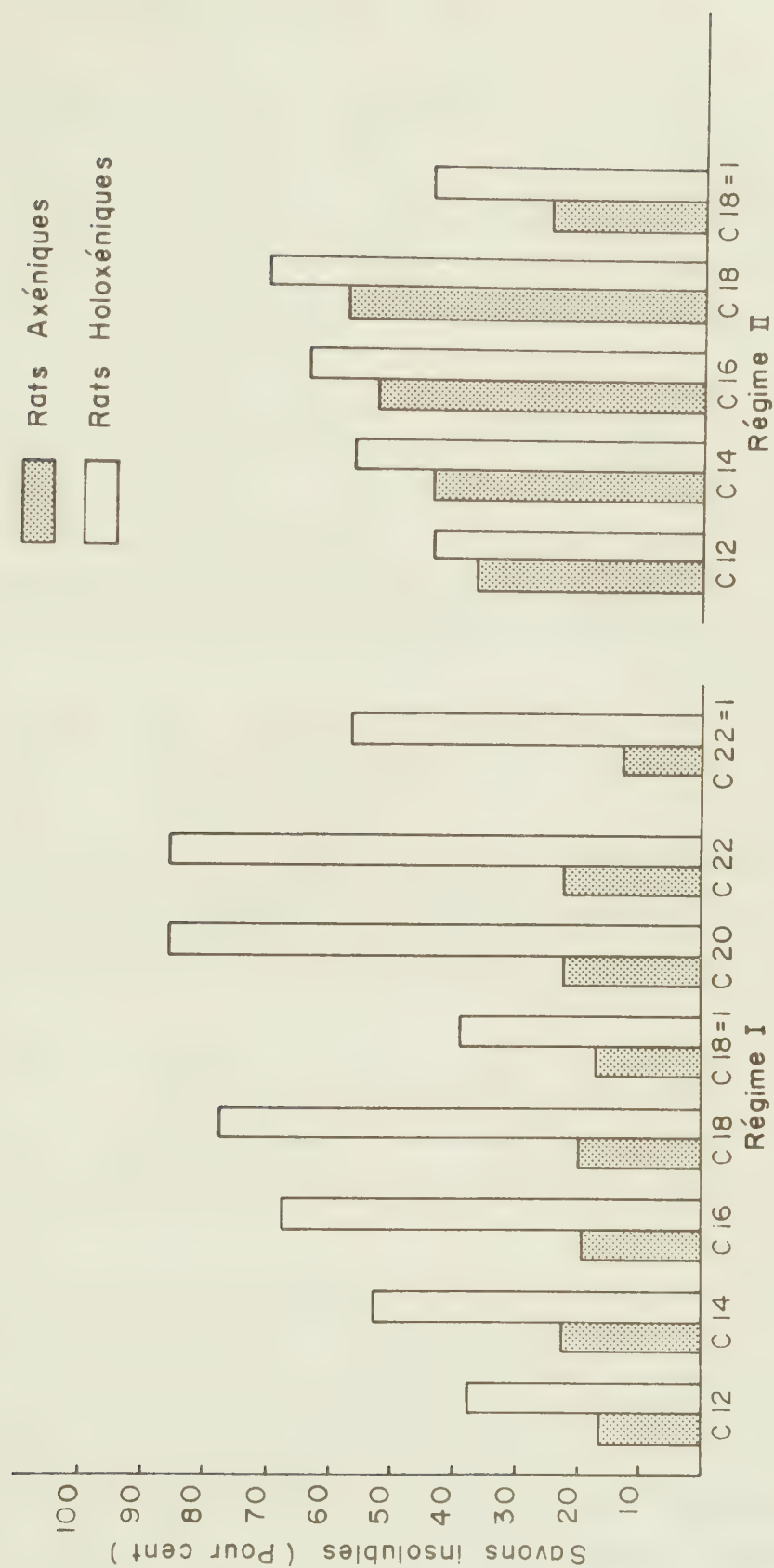


Fig. 7 - Pourcentage de chaque acide gras excrété sous forme insoluble dans les fécès





2 - La flore intestinale augmente la formation des savons insolubles. Parmi les acides gras dont la digestibilité est diminuée par la microflore intestinale, les acides palmitique et stéarique sont ceux qui forment le plus de savons insolubles. Il semble donc exister une relation entre l'absence de flore microbienne, la meilleure digestibilité des acides palmitique et stéarique et la plus faible formation de savons de calcium de ces acides gras.

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — :

INFLUENCE DE LA FLORE MICROBIENNE SUR L'ABSORPTION  
APPARENTE DES LIPIDES ALIMENTAIRES DANS DES CONDITIONS PATHOLOGIQUES :  
SYNDROME DE L'ANSE AVEUGLE

$\rightarrow \cdot - \cdot - \cdot - \cdot - \cdot - \cdot - \cdot - \cdot - \cdot -$

## REPRODUCTION DE LA MALABSORPTION DES LIPIDES CHEZ LE RAT HOLOXENIQUE

Chez des rats holoxéniques qui reçoivent le régime S.N., la formation d'une anse aveugle, selon la technique précédemment définie (p. 7), est suivie d'une augmentation importante des graisses fécales (tableau XXXV, lot I et II). Cependant, parmi les sujets d'une même animalerie et à un même moment, la stéatorrhée est très variable d'un individu à un autre, comme le montre l'importance de l'écart-type, et, chez un même individu l'excrétion fécale des graisses varie d'un test à l'autre (tableau XXXVI). Enfin, l'importance de l'excrétion fécale varie dans une même animalerie selon diverses circonstances : un an après qu'ait été changé le régime alimentaire commercial qui sert à la production des sujets d'expérience, il n'est plus possible dans l'animalerie qui a fourni les lots I et II d'obtenir des rats qui présentent une excrétion fécale de graisse importante (tableau XXXV, lot III).



TABLEAU XXXV - Excrétion fécale de matières grasses chez des rats qui reçoivent l'aliment S.N., selon la présence (+), ou l'absence (-) d'une anse aveugle, l'état microbien, le lot expérimental.

| Anse aveugle | Etat microbien | Lot   | Nombre de rats | M.G.F. (1)     |
|--------------|----------------|-------|----------------|----------------|
| -            | Axénique       |       | 9              | 1,8 $\pm$ 0,2  |
|              | Holoxénique    | I     | 10             | 4,1 $\pm$ 0,4  |
|              | Gnotoxénique   | N (2) | 4              | 5,0            |
| +            | Axénique       |       | 10             | 4,0 $\pm$ 0,4  |
|              | Holoxénique    | I     | 10             | 15,5 $\pm$ 2,6 |
|              |                | II    | 8              | 17,5 $\pm$ 2,4 |
|              |                | III   | 13             | 7,6 $\pm$ 0,9  |
|              | Gnotoxénique   | N (2) | 11             | 22,4 $\pm$ 2,1 |

(1) M.G.F. = Excrétion fécale de matières grasses en % des matières grasses ingérées. Moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne

(2) Voir tableau XXXVII





TABLEAU XXXVI - Variations individuelles de l'excrétion

fécale de matières grasses chez des rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle au cours de deux tests consécutifs faits à vingt jours d'intervalle. Excrétion fécale de matières grasses en % des matières grasses ingérées.

| Rats    | 1er Test | 2ème Test |
|---------|----------|-----------|
| 1       | 12,2     | 28,2      |
| 2       | 22,4     | 9,1       |
| 3       | 6,7      | 17,5      |
| 4       | 23,9     | 22,8      |
| 5       | 11,0     | 21,5      |
| 6       | 21,3     | 9,6       |
| Moyenne | 16,2     | 18,1      |



# REPRODUCTION DE LA MALABSORPTION DES LIPIDES PAR ENSEMENCEMENT DU RAT AXENIQUE AU MOYEN DE BACTERIES ISOLEES DU TRACTUS DIGESTIF DU RAT HOLOXENIQUE

Les rats axéniques qui reçoivent le régime S.N. excrètent moins de matières grasses fécales que les rats holoxéniques. (tableau XXXV, ligne 1 et 2). La formation d'une anse aveugle n'augmente que légèrement cette excrétion (ligne 4). L'administration à ces rats de la 6ème dilution décimale de matières fécales de rats holoxéniques détermine une augmentation importante de matières grasses fécales, ce qui démontre que c'est bien la flore microbienne qui est responsable de ce trouble (tableau XXXVII, dernière ligne). Les tentatives faites dans le but de reproduire le symptôme de stéatorrhée en implantant, dans le tractus digestif du rat axénique porteur d'une anse aveugle, des souches de bactéries isolées des fèces du rat holoxénique, sont représentées dans le tableau XXXVII. Les souches bactériennes sont désignées selon la nomenclature présentée dans le tableau I. Les résultats peuvent être résumés comme suit :

1° - De nombreuses souches ou groupes de bactéries isolées du tube digestif des rats holoxéniques sont incapables de produire une élévation importante des lipides fécaux : rats gnotoxéniques A, B, C, D, E, G, H, I.

2° - Un inoculum complexe (rats gnotoxéniques N) comprenant 21 souches bactériennes permet d'obtenir une stéatorrhée égale à celle des holoxéniques. Il est possible de répéter ces résultats.

3° - Les essais faits dans le but d'obtenir un résultat semblable avec un inoculum plus simple donnent des résultats très irréguliers, en particulier les tentatives faites avec une ou deux souches. Le meilleur résultat (gnotoxéniques L) est obtenu en administrant à la sonde stomacale les souches de streptocoques anaérobies stricts (2 à 6), aux rats gnotoxéniques G dont l'excrétion fécale de matières grasses est faible. Celle-ci s'accroît alors considérablement.

4° - Un inoculum M permet d'obtenir cinq sujets qui ont une excrétion fécale de matières grasses très nettement accrue et régulière, et quatre sujets qui ne présentent pas cette augmentation.

## ETUDE BACTERIOLOGIQUE - RAPPEL -

L'obtention de rats gnotoxéniques porteurs d'une anse aveugle qui présentent une malabsorption des lipides alimentaires présente donc des difficultés. Nous rappelons que l'étude bactériologique, faite au chapitre I, montre que, selon la façon dont les souches bactériennes sont associées, leur dé-



TABLEAU XXXVII - Reproduction expérimentale de la stéatorrhée.

Excrétion fécale de matières grasses chez des rats gnotoxéniques porteurs d'une anse aveugle qui ont reçu différents inoculums.

| Gnotoxéniques             | Inoculum                    | Nombre de rats | M.G.F. (1)     |
|---------------------------|-----------------------------|----------------|----------------|
| A                         | 4                           | 5              | 8,1 $\pm$ 2,4  |
| B                         | 21                          | 5              | 1,2 $\pm$ 0,2  |
| C                         | 25                          | 2              | 6,1            |
| D                         | 1 + 21                      | 2              | 7,0            |
| E                         | 3 + 26                      | 2              | 4,6            |
| F                         | 2 +4+5+6                    | 3              | 13,9           |
| G                         | 1 + 21 + 25 + 26 + 27       | 5              | 5,6 $\pm$ 1,2  |
| H                         | 21 + 25 + 26 + 27 + 28      | 3              | 4,2            |
| I                         | 1 + 2 + 3 + 10 + 15 + 24    | 2              | 5,0            |
| J                         | 1 + 6 + 7 + 8 + 11 + 26     | 5              | 17,3 $\pm$ 1,4 |
| K                         | 10 + 11 + 15 + 24 + 27 + 28 | 4              | 13,4 $\pm$ 1,4 |
| L 1                       | 1 à 6 +21+25+26+ 27         | 4              | 25,6 $\pm$ 5,0 |
| L 2                       |                             | 4              | 19,3 $\pm$ 3,0 |
| M                         | 1+4 à 8+11+15+25+26+30      | 5              | 18,1 $\pm$ 0,5 |
|                           |                             | 4              | 6,8 $\pm$ 0,9  |
| N                         | 1 à 12 +15+21 à 27 + 31     | 11             | 22,4 $\pm$ 2,1 |
| 8ème dilution holoxénique |                             | 4              | 9,6            |
| 6ème dilution holoxénique |                             | 4              | 25,1 $\pm$ 4,1 |

(1) - M.G.F. = Matières grasses fécales en % des matières grasses ingérées . (moyenne  $\pm$  écart-type de la moyenne).





veloppement dans l'anse aveugle est très variable (tableau VII). Cette étude bactériologique montre aussi que , chez les rats gnotoxéniques M, les variations numériques au niveau de l'anse aveugle et des quatre segments de l'intestin grêle étudiés sont si importantes qu'il est impossible de mettre en évidence la prédominance de certaines souches chez les sujets qui présentent la malabsorption (tableau VIII). Ceci s'applique en particulier à la répartition des streptocoques anaérobies stricts sur lesquels l'attention avait été attirée par les résultats obtenus chez les rats gnotoxéniques L . Enfin, la répartition du streptocoque anaérobie stricte n°4 chez les rats gnotoxéniques A n'est pas sensiblement différente de la répartition des streptocoques anaérobies stricts chez les rats gnotoxéniques M (tableau IX).

### - C O N C L U S I O N -

L'étiologie bactérienne du symptôme de stéatorrhée est établie. Il est possible de reproduire ce symptôme en établissant des bactéries dans le tractus digestif du rat axénique porteur d'une anse aveugle. Mais ce résultat n'est atteint qu'avec des mélanges complexes de souches. L'analyse bactériologique n'a pas réussi à distinguer, au sein des mélanges de bactéries qui reproduisent la malabsorption, celles qui jouent un rôle déterminant.

### ETUDE DU MODE D'ACTION PAR LEQUEL LA FLORE MICROBIENNE DETERMINE LA MALABSORPTION DES LIPIDES ALIMENTAIRES

#### ACIDES GRAS ET MALABSORPTION DES LIPIDES ALIMENTAIRES

1 - Quand les rats holoxéniques reçoivent une graisse alimentaire de faible digestibilité, très riche en acides gras longs et saturés, l'excrétion fécale de matières grasses n'est pas accrue par la présence d'une anse aveugle.

Six rats C.F. porteurs d'une anse aveugle, qui reçoivent le régime S.N., présentent une excrétion fécale de matières grasses égale à 13 % de la graisse ingérée. Ces sujets, et 6 rats témoins, reçoivent alors pendant trois semaines le régime III, qui contient 13 % de matières grasses riches en acide palmitique et stéarique. Les fèces sont collectées et l'excrétion fécale est déterminée par la méthode de TOULLEC. L'excrétion fécale de graisse et le pourcentage de matières grasses excrétées sous forme insoluble sont représentés dans le tableau XXXVIII.



TABLEAU XXXVIII - Excrétion fécale de matières grasses en pour 100  
des matières grasses ingérées : M.G.F., et fraction insoluble  
en pour 100 des matières grasses excrétées : M.G.I.

|        | Rats témoins    | Rats porteurs d'une anse aveugle |
|--------|-----------------|----------------------------------|
| M.G.F. | 24,2 $\pm$ 1,12 | 27,9 $\pm$ 0,83                  |
| M.G.I. | 74,5 $\pm$ 1,83 | 78,4 $\pm$ 1,20                  |

La différence entre les excrétions fécales de matières grasses est très faible. Dans les deux groupes de rats, la plus grande partie des graisses fécales est sous forme insoluble. Les pourcentages de matières grasses insolubles ne sont pas statistiquement différents.

2 - Quand les rats holoxéniques reçoivent une graisse alimentaire de faible digestibilité, mais riche en acides gras longs insaturés, l'excrétion fécale de matières grasses est fortement augmentée par la présence d'une anse aveugle.

Les expériences précédentes permettent de penser que l'action de la flore, qui se développe au niveau de l'intestin grêle chez les rats porteurs d'une anse et détermine la stéatorrhée, est plus importante sur les matières grasses insaturées que sur les matières grasses saturées. Cependant, les graisses saturées sont déjà tellement mal absorbées chez le rat normal qu'il peut paraître difficile de diminuer leur utilisation digestive par un quelconque moyen. Afin de rejeter cet argument, nous nous proposons de voir quelle pouvait être l'influence de la formation d'un cul de sac intestinal et de la prolifération bactérienne qui s'y produit sur l'utilisation digestive d'une matière grasse saturée employée dans l'expérience précédente. C'est pourquoi nous choisissons l'huile de colza, dont le C.U.D. moyen est, chez le rat holoxénique normal, de 80 pour cent environ (157). De plus cette huile contient 50 % d'acide érucique (C 22 : 1) qui n'existe qu'à l'état de trace dans les tissus du rat et constitue, par conséquent un bon marqueur de la graisse alimentaire.

A la suite de l'expérience précédente, trois rats Wistar porteurs d'un cul de sac intestinal ainsi que trois témoins, reçoivent le régime IV, dans lequel la matière grasse saturée du régime III est remplacée par une quantité équivalente d'huile de colza. L'excrétion fécale de graisse et la pro-





portion de matières grasses insolubles dans les fèces sont présentées dans le tableau XXXIX.

Tableau XXXIX - Excrétion fécale de matières grasses pour 100 de matières grasses ingérées : M.G.F., et fraction insoluble pour 100 de matières grasses excrétées : M.G.I.

|        | Rats témoins    | Rats porteurs d'une anse aveugle |
|--------|-----------------|----------------------------------|
| M.G.F. | 15,1 $\pm$ 0,84 | 33,1 $\pm$ 2,04                  |
| M.G.I. | 35,5 $\pm$ 3,1  | 35,9 $\pm$ 2,9                   |

L'excrétion fécale de matières grasses est significativement accrue chez les sujets porteurs d'une anse, mais cet accroissement n'est pas en rapport avec une élévation du pourcentage de matières grasses insolubles. En outre, l'analyse des acides gras fécaux ne révèle chez les sujets porteurs d'une anse aveugle comme chez les témoins que des quantités très faibles d'acide béhénique.

3 - Chez les rats gnotoxéniques, porteurs d'une anse aveugle, qui reçoivent le régime S.N., il existe une excrétion fécale importante de matières grasses sans que la proportion des acides gras saturés en C<sub>16</sub> et en C<sub>18</sub> atteigne des valeurs élevées.

L'expérience précédente ne s'accorde pas avec celle de HOET et coll. qui observent, dans les fèces de leurs rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle, une excrétion fécale de 6 % d'acide béhénique alors que les témoins n'en contiennent que des traces( 99 ). Ces auteurs observent aussi que, chez les rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle qui reçoivent un régime alimentaire semblable au régime S.N., et qui présentent une stéatorrhée, 87 % des acides gras fécaux en C<sub>16</sub> et en C<sub>18</sub> sont saturés.

Le tableau XL représente la proportion des acides saturés et insaturés en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> dans les fèces des rats gnotoxéniques N qui reçoivent le régime S.N. Il apparaît que malgré un pourcentage faible d'acide linoléique la proportion des acides saturés dans les fèces des rats porteurs d'une anse aveugle est très faible, et demeure semblable à celle des témoins. Les proportions des acides oléique et stéarique sont telles que la malabsorption observée chez ces sujets ne peut s'expliquer par une hydrogénation de l'acide oléique en acide stéarique difficilement absorbé par la muqueuse intestinale.



TABEAU XL - Proportions des acides gras en  $C_{16}$  et  $C_{18}$  et excrétion de matières grasses chez les rats gnotoxéniques N porteurs ou non d'une anse aveugle. Proportions de ces acides gras dans l'huile de maïs ingérée.

|                  | Rats témoins<br>n = 3 | Rats porteurs d'<br>une anse aveugle | Huile de maïs |
|------------------|-----------------------|--------------------------------------|---------------|
| C 16             | 17,5 $\pm$ 3,2        | 20,2 $\pm$ 1,3                       | 14,9          |
| C 18             | 12,9 $\pm$ 2,0        | 8,4 $\pm$ 1,1                        | 2,8           |
| C 18 : 1         | 51,1 $\pm$ 7,2        | 64,0 $\pm$ 2,8                       | 35,2          |
| C 18 : 2         | 18,5 $\pm$ 2,7        | 7,3 $\pm$ 1,5                        | 46,9          |
| % acides saturés | 30,4 $\pm$ 4,8        | 28,6 $\pm$ 2,1                       | 17 %          |
| M.G.F. (1)       | 3,0 $\pm$ 0,6         | 22,5 $\pm$ 2,0                       |               |

(1) M.G.F. = Matières grasses fécales en % des matières grasses ingérées

### - C O N C L U S I O N S -

Chez les rats holoxéniques, la flore intestinale ne semble pas agir sur l'absorption apparente des lipides de la même manière dans le cas des sujets normaux et dans le cas des sujets porteurs d'une anse aveugle. Dans le premier cas, la flore intestinale diminue surtout l'absorption apparente des matières grasses saturées alors que dans le second cas, elle diminue surtout l'absorption apparente des matières grasses insaturées. Nous n'observons pas chez les rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle une hydrogénation de l'acide érucique en acide béhénique. Chez des rats gnotoxéniques porteurs d'une anse aveugle, il est possible d'observer une stéatorrhée bien que les acides gras en  $C_{16}$  et  $C_{18}$  soient très peu saturés.

Il est donc possible que chez certains sujets holoxéniques l'hydrogénation des acides gras insaturés par les bactéries intestinales contribue à la malabsorption des lipides alimentaires, mais il est certain que celle-ci peut résulter de processus différents.

### ACIDES BILIAIRES ET MALABSORPTION DES LIPIDES ALIMENTAIRES

Les résultats qui précèdent, conduisent à étudier les hypothèses qui tentent d'expliquer la malabsorption des lipides alimentaires par les modifications que la flore intestinale fait subir aux sels biliaires.



Diminution de la quantité de taurocholate au niveau de l'intestin

grêle des rats qui présentent la malabsorption

En raison des difficultés techniques rencontrées dans l'étude quantitative des acides biliaires, nous cherchons d'abord s'il existe une relation entre l'augmentation de la graisse fécale et une diminution de la quantité de taurocholate au niveau de l'intestin grêle.

La technique de HILL et DRASAR permet de distinguer parmi les souches bactériennes qui sont présentes chez les rats gnotoxéniques, celles qui déconjuguent le taurocholate in vitro. Le tableau XLI indique que sur vingt-trois souches, neuf sont inactives, une a une activité douteuse, et les douze autres ont une activité certaine. Aucune des souches ne forme du désoxycholate à partir du taurocholate, à l'exception de la souche de Welchia perfringens n°30. Cette dernière a été introduite chez les rats gnotoxéniques M. Elle s'établit mal au niveau de l'intestin grêle, et demeure peu abondante au niveau du caecum (tableau VIII).

L'examen du tableau XXXVII montre que les rats gnotoxéniques I n'ont reçu aucune souche qui déconjugue le taurocholate in vitro, à l'exception de la souche n°3, dont l'activité est douteuse. Ces rats ont une excrétion fécale normale de matières grasses. Les autres rats gnotoxéniques ont reçu un nombre plus ou moins important de souches qui possèdent une taurocholate-amidase. Certains, F, J, K, L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, N, présentent un accroissement de l'excrétion fécale de matières grasses, et d'autres, B, E, G, H, ne présentent pas d'augmentation ou, A, C, D, présentent une faible augmentation.

Les quantités de taurocholate et d'acide cholique libre présentes dans le contenu de l'anse aveugle et des divers segments de l'intestin grêle de rats axéniques, holoxéniques et des rats gnotoxéniques B, H, I, J, K, L 2, sont déterminées selon les techniques décrites p. 68 et 69. Les résultats sont présentés dans le tableau XLII par la moyenne arithmétique des quantités trouvées au niveau de chaque segment intestinal chez les sujets d'un même lot. L'intestin grêle des rats axéniques C.F. non opérés contient une quantité de taurocholate qui est plus de deux fois supérieure à celle des holoxéniques. La formation d'une anse aveugle s'accompagne d'une très importante accumulation de taurocholate dans ce cul de sac en même temps que les quantités tendent à augmenter en amont et à diminuer en aval.

Chez les holoxéniques et chez les gnotoxéniques, K, J, L 2, qui sont pourvus d'un cul de sac (tableau XIII, ligne 4), et chez lesquels la stéatorrhée est observée, il se produit une diminution importante de la quantité totale de taurocholate et une augmentation de la quantité d'acide cholique libre.





TABLEAU XLI - Déconjugaison in vitro du taurocholate

| Gehre et numéro de souche                                                                                                                                                                                        | Déconjugaison in vitro<br>du taurocholate |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Veillonella (1), Streptocoque anaérobie strict (2)<br>Streptocoques anaérobies facultatifs (10 et 12),<br>Butyribacterium (15), Ramibacterium (22 et 23),<br>Fusiformis (24), Torulopsis (31)                    | -                                         |
| Streptocoque anaérobie strict (3)                                                                                                                                                                                | <u>+</u>                                  |
| Streptocoques anaérobies stricts (4, 5, 6, 7, 8)<br>Streptocoque anaérobie facultatif (11),<br>Catenabacterium (17), Acuformis (21), Endosporus<br>(25), Clostridium (26, 27) Plectridium (28),<br>Welchia (30). | +                                         |



TABLEAU XLIII- Quantités de taurocholate (T) et d'acide cholique libre (C) exprimées en micromoles au niveau de l'anse et des divers segments intestinaux des rats axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques.

| Flore microbienne | Nombre de rats | I.G.1 (1) |     | Anse  |     | I.G.2 (1) |     | I.G.3 (1) |     | I.G.4 (1) |     | Total |      | M.G.I (2) |
|-------------------|----------------|-----------|-----|-------|-----|-----------|-----|-----------|-----|-----------|-----|-------|------|-----------|
|                   |                | T         | C   | T     | C   | T         | C   | T         | C   | T         | C   | T     | C    |           |
| Axénique          | 3              | 4,5       | 0   | (3)   |     | 20,2      | 0   | 24,0      | 0   | 18,4      | 0   | 67,1  | 0    | 1,8       |
|                   | 4              | 13,2      | 0   | 156,9 | 0   | 13,0      | 0   | 21,2      | 0   | 8,9       | 0   | 213,2 | 0    | 4,0       |
| Holoxénique       | 6              | 1,0       | 0   | (3)   |     | 4,0       | 0   | 16,9      | 0   | 5,9       | +   | 27,8  | +    | 4,1       |
|                   | 7              | 2,1       | 0,5 | 4,2   | 1,1 | 3,3       | 1,2 | 4,3       | 1,1 | 4,0       | 1,8 | 17,9  | 5,7  | 17,5      |
| Gnotoxénique (5)  | 2              | 5,2       | 0,2 | 32,5  | 0,6 | 7,0       | 0,2 | 15,7      | 0,2 | 12,0      | 0,3 | 72,5  | 1,5  | 1,2       |
|                   | I              | 1,9       | 0   | 8,9   | 0   | 8,7       | 0   | 15,1      | +   | 10,0      | +   | 44,6  | +    | 5,0       |
|                   | H              | 0,8       | +   | 16,0  | 0,7 | 4,8       | +   | 12,4      | +   | 5,4       | +   | 39,4  | +    | 4,2       |
|                   | K              | 1,0       | 0,2 | 6,4   | 5,8 | 1,8       | 0,8 | 3,4       | 1,2 | 2,4       | 1,4 | 15,0  | 9,4  | 13,4      |
|                   | J              | 2,2       | +   | 0,2   | 3,2 | 2,5       | 1,0 | 3,2       | 2,8 | 0,4       | 1,6 | 8,5   | 8,6  | 17,3      |
|                   | L 2            | 0,8       | 0,6 | 0,4   | 5,4 | 2,3       | 1,0 | 1,4       | 2,2 | 1,4       | 1,5 | 6,3   | 10,7 | 19,3      |
|                   |                |           |     |       |     |           |     |           |     |           |     |       |      |           |

(1) - I.G.1, I.G.2, I.G.3, I.G.4, 1er, 2è, 3è, 4è segments de l'intestin grêle. Chez les rats porteurs d'une anse aveugle, I.G.1 désigne le segment placé en avant de l'anse aveugle

(2) - M.G. I = Matières grasses excrétées dans les fécès en % des matières grasses ingérées

(3) - Ces rats n'ont pas d'anse aveugle

(4) - ( + ) présent, mais en quantité inférieure ou égale à 0,1 micromole

(5) - La répartition des gnotoxéniques dans le tableau est ordonnée selon les quantités décroissantes de taurocholate présent dans l'intestin.





La comparaison avec les valeurs qui sont observées chez l'axénique met en évidence combien la diminution du taurocholate est importante. Cette diminution porte sur tous les segments de l'intestin grêle. Au contraire, les gnotoxéniques B, H, I, chez lesquels il n'y a pas cette diminution importante du taurocholate ont une excrétion normale de graisse fécale. Les inoculums B et H bien que constitués de souches qui déconjuguent nettement le taurocholate in vitro, et bien que ces souches soient très bien développées dans l'anse aveugle (tableau VII), ne provoquent pas une diminution importante du taurocholate dans l'intestin grêle.

Remarque - Les résultats sont exprimés dans la tableau XLII par leur moyenne arithmétique. En fait, il convient de souligner que la répartition du taurocholate au niveau des divers segments de l'intestin grêle ou au niveau de l'anse aveugle est très irrégulière. La figure 8 présente les valeurs du taurocholate dosées au niveau des segments intestinaux chez les divers individus des lots axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques J et L 2. L'examen de cette figure montre que les sujets axéniques ne sont pas épargnés par cette variabilité qui relève sans doute des irrégularités propres au transit gastro-intestinal. Chez les sujets qui sont pourvus d'une microflore, les valeurs extrêmes des quantités totales varient dans le rapport 1,5 chez les holoxéniques, 3,4 chez les holoxéniques pourvus d'une anse aveugle. Chez les rats gnotoxéniques, six sur huit ont moins de 6 micromoles de taurocholate dans leur intestin grêle et deux ont 16 micromoles et plus. Malgré ces irrégularités il est hors de doute qu'il existe chez les rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle et chez les rats gnotoxéniques J et L 2 une diminution très importante de la quantité de taurocholate au niveau de l'intestin grêle. Cette diminution paraît plus importante chez les rats gnotoxéniques J et L 2 que chez les holoxéniques porteurs d'une anse aveugle.

## - C O N C L U S I O N -

Chez les rats holoxéniques et chez les rats gnotoxéniques porteurs d'une anse aveugle qui présentent une excrétion fécale de graisse trois à cinq fois supérieure à la normale, il y a une diminution très importante de la quantité de taurocholate présente au niveau de tous les segments de l'intestin grêle. La malabsorption des graisses pourrait provenir de l'action des bactéries, qui pullulent au niveau de l'intestin grêle, sur les sels biliaires.

Cependant, les quantités de taurocholate présentes au niveau de l'intestin grêle des rats holoxéniques et gnotoxéniques porteurs d'une anse aveugle sont très variables d'un sujet à l'autre. Chez les rats holoxéniques il existe de nombreuses bactéries qui possèdent une taurocholate-amidase : sur vingt-trois souches isolées du contenu intestinal de ces sujets, treize déconjuguent le tauro-



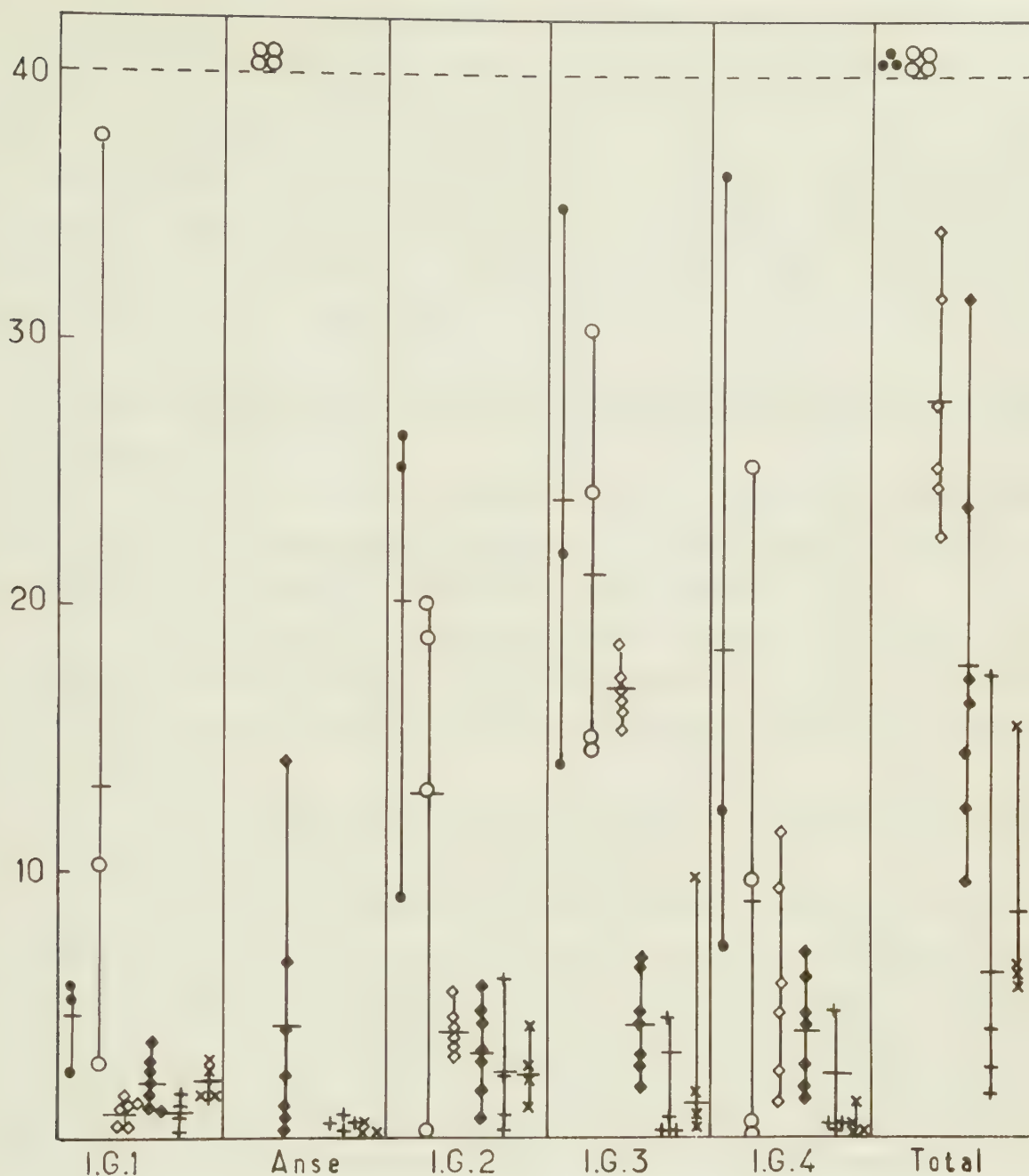


**Fig. 8** Valeurs individuelles du Taurocholate dans les divers segments intestinaux des rats axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques J et L 2

- Axénique
- Axénique avec anse aveugle
- ◊ Holoxénique
- ◆ Holoxénique avec anse aveugle
- + Gnotoxéniques L 2
- \* Gnotoxéniques J

En ordonnées : micromoles de taurocholate. Les valeurs situées au-dessus de - - - sont supérieures à 40 micromoles. Les barres horizontales indiquent les moyennes arithmétiques.



cholate in vitro. Mais, l'ensemencement du tractus gastro-intestinal de rats axéniques par des souches actives in vitro n'est pas nécessairement suivi d'une diminution importante du taurocholate au niveau de l'intestin grêle. Le résultat varie selon les souches, la façon dont elles sont associées et aussi selon les individus. Les variations du transit intestinal (p.45), les interactions bactériennes, les différences importantes observées dans la répartition des bactéries au niveau de l'anse aveugle et des divers segments de l'intestin grêle (tableau VIII) expliquent en partie cette variabilité.

#### Modification de l'ensemble des acides biliaires sous l'action de la flore microbienne

Il reste à établir si les modifications quantitatives observées concernant le taurocholate s'exercent également sur les sels des autres acides biliaires de l'intestin grêle des divers groupes de rats.

Comme la composition de la bile et des contenus de l'intestin grêle chez le rat axénique n'est pas connue et que seule la composition de la bile du rat holoxéniques a fait l'objet d'analyse détaillée (182), notre exposé comprendra :

1° - une étude comparée de la composition en acides biliaires de la bile du rat axénique et du rat holoxénique.

2° - une étude de la composition en acides biliaires du contenu de l'intestin grêle chez les rats axéniques, axéniques porteurs d'une anse aveugle, holoxéniques, holoxéniques porteurs d'une anse aveugle, et chez les rats gnotoxéniques J et L 2. Cette étude portera d'abord sur les acides biliaires totaux, puis sur les acides biliaires libres. Il sera ainsi possible d'estimer les quantités des acides biliaires conjugués présentes au niveau de l'intestin grêle, et la formation des métabolites bactériens des acides biliaires.

En raison des difficultés techniques que représentent ces analyses, de la variabilité observée concernant les quantités de taurocholate mesurées au niveau des divers segments de l'intestin grêle, ces analyses sont faites sur le mélange des biles de 3 ou 4 sujets ou le mélange des extraits intestinaux des sujets de chaque lot.

#### 1° - Acides biliaires de la bile des rats axéniques et holoxéniques

La composition de la bile en acides biliaires est rapportée dans le tableau XLIII. La position chromatographique de chaque tache est donnée par son  $R_c$ , c'est à dire par le rapport de la distance parcourue par cette tache à la distance parcourue par le cholate de méthyle. Aucune tache n'est obser-







ou polyxéniques, en % de l'ensemble

| Acides                           | Tache n° | Composés ayant la mobilité de l'ester méthylique de l'acide | Rc   | Axéniques | Holoxéniques | Polyxéniques (1) |
|----------------------------------|----------|-------------------------------------------------------------|------|-----------|--------------|------------------|
| Trihydroxylés                    | 1        | cholique                                                    | 1,00 | 38,7      | 53,8         | 52,6             |
|                                  | 2        | trihydroxylé n°2                                            | 1,31 | 2,4       | traces       | 2,2              |
|                                  | 3        | trihydroxylé n°3                                            | 1,71 | 0,7       | 3,4          |                  |
|                                  | 4        | bêta-muricholique                                           | 2,25 | 39,2      | 14,2         | 9,8              |
|                                  | 5        | hyodésoxycholique                                           | 3,00 | 0         | 9,5          | 9,7              |
| Dihydroxylés                     | 6        | 7-ceto-3,12 alpha dihydroxylé                               | 3,30 | 1,8 (2)   | 0            |                  |
|                                  | 7        | phénodésoxycholique                                         | 3,80 | 4,3       | 4,3          | 12,7             |
|                                  | 8        | désoxycholique                                              | 4,31 | 0         | 4,3          | 4,0              |
|                                  | 9        | ursodésoxycholique                                          | 4,56 | 11,4      |              |                  |
|                                  | 10       | inconnu                                                     | 4,89 |           | 5,5          |                  |
|                                  | 11       | " "                                                         | 5,19 | 0         |              |                  |
| Mono-hydroxylés                  | 12       | inconnu                                                     | 5,62 | 1,6       |              |                  |
|                                  | 13       | lithocholique                                               | 5,82 | 0         | 4,6          | 1,7              |
|                                  | 14       | inconnu                                                     | 6,04 | 0         |              |                  |
|                                  |          |                                                             |      |           |              |                  |
| 3 bêta, 12 alpha dihydroxylé (3) |          |                                                             |      |           |              |                  |
| 3 alpha, 12 bêta " " (3)         |          |                                                             |      |           |              |                  |
|                                  |          |                                                             |      |           |              |                  |
| 4,0                              |          |                                                             |      |           |              |                  |
| 2,8                              |          |                                                             |      |           |              |                  |

(1) - d'après Subbiah et coll., (182)

(2) - de nature différente de l'acide 7-cétonique

(3) - la position de ces acides biliaires dans notre système chromatographique est inconnue.



vée au niveau de l'ester méthylique de l'acide hyocholique, qui, en conséquence, n'est pas porté dans le tableau. Des différences importantes apparaissent entre la bile des rats axéniques et celle des rats holoxéniques. Sur les chromatogrammes correspondant à la première, manquent les taches n°5, 8, 11 et 14: la bile des rats axéniques ne contient donc pas d'acide hyodésoxycholique, d'acide désoxycholique ni les éléments inconnus 11 et 14. L'élément n°6 qui a la position chromatographique de l'ester méthylique de l'acide 7-céto, 3, 12- $\alpha$ -dihydroxy, 5  $\beta$ -cholanique est différent de celui-ci, car il ne donne pas la même coloration sous l'action de l'acide sulfurique. L'éluat de la tache n°13 ne réagit pas avec la préparation enzymatique et ne correspond donc pas à l'acide lithocholique.

Comparée à la bile de l'holoxénique, la bile de l'axénique contient davantage d'acide  $\beta$ -muricholique, moins d'acide cholique et la répartition des acides dihydroxylés est différente. Les résultats de l'analyse faite chez les rats holoxéniques sont assez semblables à ceux que SUBBIAN et coll. (102) observent chez leurs rats polyxéniques, avec des techniques différentes, mais nous trouvons des quantités sensiblement plus faibles d'acide chénodésoxycholique.

## 2° - Acides biliaires des contenus de l'intestin grêle

### a) Acides biliaires totaux (tableau XLIV)

1) - Rats axéniques - Chez les rats axéniques, la nature des acides biliaires qui sont présents dans l'intestin grêle diffère sensiblement de ce qu'elle est dans la bile. Il y a davantage d'acide  $\beta$ -muricholique, et moins des autres espèces chimiques : acide cholique et surtout acide chénodésoxycholique, acides dihydroxylés.

Chez les rats axéniques qui sont porteurs d'une anse aveugle et chez lesquels les quatre cinquièmes des acides biliaires de l'intestin grêle sont en réalité contenus dans l'anse aveugle, où ils s'accumulent après un trajet très court dans le premier segment de l'intestin grêle, la composition se rapproche de celle de la bile.

2) - Rats holoxéniques - Chez les rats holoxéniques, comme chez les axéniques, il y a davantage d'acide  $\beta$ -muricholique dans l'intestin grêle que dans la bile et moins des autres espèces chimiques, en particulier d'acide cholique. La proportion de l'acide n°3 et de l'acide hyodésoxycholique demeure peu modifiée. Il apparaît un composé semblable par sa couleur et sa position chromatographique à l'ester méthylique de l'acide 7-céto, 3-12- $\alpha$ -dihydroxy, 5- $\beta$ -cholanique, que l'on ne trouve pas dans la bile.

Chez les rats holoxéniques porteurs d'une anse aveugle,



TABLEAU XLIV - Acides biliaires du contenu de l'intestin grêle des rats axéniques, holoxéniques, porteurs ou non d'une anse aveugle et des rats gnotoxéniques L 2 et J porteurs d'une anse aveugle, en % de l'ensemble.

| Tache n° | Composés ayant la mobilité de l'ester méthylique de l'acide | Axéniques | Axéniques anse aveugle | Holoxéniques | Holoxéniques anse aveugle | Gnotoxéniques anse aveugle L 2 | Gnotoxéniques anse aveugle J |
|----------|-------------------------------------------------------------|-----------|------------------------|--------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 1        | cholique                                                    | 36,4      | 46,4                   | 41,2         | 37,9                      | 35,2                           | 33,2                         |
| 2        | trihydroxylé N° 2                                           | 3,4       |                        | 5,7          | 9,6                       |                                | 7,5                          |
| 3        | trihydroxylé N° 3                                           | 0,5       | 1,7                    | 3,1          | 4,9                       | 4,2                            | 1,9                          |
| 4        | bêta-muricholique                                           | 53,3      | 38,3                   | 29,4         | 23,9                      | 24,7                           | 33,1                         |
| 5        | hyodésoxycholique                                           | 0         | 0                      | 7,8          | 9,0                       | 0                              | 0                            |
| 6        | 7 ceto 3 alpha 12 alpha dihydroxy 5 bêta cholanique         | 0,7 (1)   | 2,5 (1)                | 1,2          |                           | 14,3                           | 8,8                          |
| 7        | chénodésoxycholique                                         | 1,5       | 5,5                    | 2,8          | 4,2                       | 10,2                           | 5,8                          |
| 8        | désoxycholique                                              | 0         | 0                      | 2,3          | 5,0                       | 0                              | 0                            |
| 9        | ursodésoxycholique                                          | 2,0       | 4,0                    | 4,4          | 5,2                       | 10,5                           | 9,0                          |
| 10       | dihydroxylé inconnu                                         |           |                        |              |                           |                                |                              |
| 11       | " "                                                         | 0         | 0                      | 2,0          | non dosé                  | non dosé                       | 0,6                          |
| 12       | monohydroxylé inconnu                                       | 1,8       | 1,2                    |              |                           |                                |                              |
| 13       | lithocholique                                               | 0         | 0                      |              |                           |                                |                              |
| 14       | monohydroxylé inconnu                                       |           |                        |              |                           |                                |                              |

(1) - De nature différente de l'acide 7 cétonique





il y a une augmentation relative des acides tri-hydroxylés n°2 et n°3, des acides chénodésoxycholique et désoxycholique. L'acide cétonique n°6 ne peut être distingué de l'acide hyodésoxycholique. Il est impossible de doser les acides 12, 13 et 14 par suite de la présence d'éléments étrangers.

3 - Rats gnotoxéniques - Chez les rats gnotoxéniques, comme chez les rats axéniques, il n'y a ni acide hyodésoxycholique ni acide désoxycholique, mais une proportion importante de l'acide cétonique n°6. L'acide chénodésoxycholique et les autres acides dihydroxylés sont en proportions importantes, alors que l'ensemble des acides trihydroxylés apparaît relativement plus faible que chez les rats axéniques, et chez les rats axéniques porteurs d'une anse aveugle.

#### b) Acides biliaires libres (tableau XLV)

La méthode de séparation par l'acétate d'éthyle permet d'analyser les acides biliaires libres. Chez les trois groupes de rats analysés, la composition des acides libres apparaît assez différente de celle des acides biliaires totaux : la principale différence est que les acides libres contiennent une proportion plus importante d'acide cholique et une proportion moindre d'acide bêta-muricholique. Cette tendance est cependant moins accusée chez les rats gnotoxéniques J que chez les rats holoxéniques. Chez ces derniers, la composition des acides biliaires libres de l'intestin grêle est très proche de la composition de la bile.

#### c) Acides biliaires conjugués

Chez les rats axéniques, il n'existe pas d'acides biliaires libres. Chez les rats holoxéniques, holoxéniques porteurs d'une anse aveugle, et chez les rats gnotoxéniques J, la proportion d'acide cholique par rapport à l'ensemble des acides biliaires, a pu être estimée (tableau XLIV et XLV); les quantités des acides taurocholique et cholique présentes au niveau de l'intestin grêle sont connues. Il est donc possible d'estimer les quantités moyennes d'acides biliaires conjugués présents chez ces rats. Le résultat de ces estimations est représenté dans le tableau XLVI, en même temps que sont rappelées les valeurs de l'excrétion fécale de matières grasses. Par rapport aux quantités présentes chez les rats holoxéniques témoins, la diminution relative des sels biliaires conjugués est de 22 % chez les rats holoxéniques, et de 55 % chez les rats gnotoxéniques J.



TABLÉAU XLV - Acides biliaires libres dans l'intestin grêle  
des rats holoxéniques, holoxéniques porteurs d'une anse  
aveugle et gnotoxéniques J porteurs d'une anse aveugle  
en pour cent de l'ensemble.

| Tache<br>n° | Composés ayant la<br>mobilité de l'ester<br>méthylique de l'a-<br>cide | Holoxéniques | Holoxéniques<br>Anse aveugle | Gnotoxéniques<br>Anse aveugle<br>J |
|-------------|------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------------|------------------------------------|
| 1           | cholique                                                               | 59,8         | 54,0                         | 40,5                               |
| 2           | trihydroxylé n°2                                                       | 4,4          | 9,7                          | 5,3                                |
| 3           | trihydroxylé n°3                                                       | 3,8          | 7,5                          | 2,3                                |
| 4           | bêta-muricholique                                                      | 12,1         | 8,4                          | 27,9                               |
| 5           | hyodésoxycholique                                                      | 8,3          | 5,7                          | 0                                  |
| 6           | 7 ceto, 3 alpha 12<br>alpha dihydroxy 5<br>bêta cholanique             |              | 1,5                          | 11,5                               |
| 7           | chénodésoxycholique                                                    | 4,1          | 4,0                          | 4,3                                |
| 8           | désoxycholique                                                         | 2,7          | 2,7                          | 0                                  |
| 9           | ursodésoxycholique                                                     | 4,4          | 6,2                          | 7,5                                |
| 10          | dihydroxylé inconnu                                                    |              |                              |                                    |
| 11          | " "                                                                    |              |                              |                                    |
| 12          | monohydroxylé inconnu                                                  | non<br>dosé  | non<br>dosé                  | 0,8                                |
| 13          | lithocholique                                                          |              |                              |                                    |
| 14          | monohydroxylé inconnu                                                  |              |                              |                                    |



**TABLEAU XLVI** - Excrétion fécale de matières grasses et quantités d'acides biliaires libres et conjugués présents au niveau de l'intestin grêle chez les rats axéniques, holoxéniques, holoxéniques porteurs d'une anse aveugle et gnotoxéniques J.

| Rats                            | M.G.F.<br>(1) | Quantités totales en micromoles |                   |                               |                            |                            |
|---------------------------------|---------------|---------------------------------|-------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                 |               | Acide<br>taurocholique          | Acide<br>cholique | Acides biliaires<br>conjugués | Acides biliaires<br>libres | Acides biliaires<br>totaux |
| Axéniques                       | 1,8           | 67,1                            | 0                 | 186                           | 0                          | 186                        |
| Holoxéniques                    | 4,1           | 27,8                            | + (2)             | 67                            | + (2)                      | 67                         |
| Holoxéniques<br>anse aveugle    | 17,8          | 17,9                            | 5,7               | 52                            | 11                         | 63                         |
| Gnotoxéniques J<br>anse aveugle | 17,3          | 8,5                             | 8,6               | 30                            | 21                         | 51                         |

(1) - M.G.F. = excrétion fécale de matières grasses en % des matières grasses ingérées

(2) - + = Quantités trop faibles pour être mesurées (voir techniques p. 69 )





Nous nous proposons de discuter d'abord de ces modifications que subissent les sels biliaires et de considérer ensuite, comment ces modifications peuvent retentir sur la digestion et l'absorption des matières grasses alimentaires.



Les modifications des acides biliaires sous l'action de la flore sont d'ordre qualitatif et d'ordre quantitatif. Du point de vue qualitatif, nous constatons des faits déjà connus : les acides biliaires chez le rat axénique existent uniquement sous forme conjuguée (87, 91) : les amidases qui clivent la liaison avec la taurine sont des enzymes bactériennes. Il n'y a pas chez l'axénique d'acide désoxycholique. Celui-ci se forme sous l'action des bactéries, qui sont relativement peu nombreuses dans la flore intestinale ou difficiles à cultiver. Les acides cétoniques, tels que l'acide 6 céto-3,12-alpha-dihydroxy-5-bêta-cholanique, sont eux aussi des produits du métabolisme bactérien.

A ces faits déjà connus, se joignent des arguments en faveur de faits nouveaux : il n'y a pas chez le rat axénique d'acide hyodésoxycholique. Il ne semble pas exister d'acide lithocholique : à ce niveau on observe sur les chromatogrammes la présence d'un élément, mais celui-ci ne réagit pas avec la préparation enzymatique. Cette observation constitue une réponse à la question posée par KELLOG et WOSTMANN (111) qui, étudiant les acides biliaires fécaux du rat axénique par chromatographie en phase gazeuse, avaient observé la présence d'un pic qui avait la position de l'acide lithocholique, et se demandaient si ce pic était l'acide lithocholique.

L'absence d'acide lithocholique chez le rat axénique, proviendrait du fait que, bien que cet acide soit un élément intermédiaire de la synthèse des acides chénodésoxycholique et muricholique (133), il n'apparaît dans la bile et l'intestin que comme le résultat de la déshydroxylation en 7 de l'acide chénodésoxycholique sous l'action des bactéries intestinales. La présence des acides hyodésoxycholique, désoxycholique, et lithocholique chez le rat holoxénique, pourrait se concevoir comme le résultat de l'action d'une 7-déshydroxylase d'origine bactérienne, respectivement sur les acides hyocholique, cholique, chénodésoxycholique. Mais nous n'avons pas observé d'acide hyocholique chez le rat axénique. L'hydroxylation en 6-bêta de l'acide lithocholique par le foie du rat a été décrite (191), mais pas l'hydroxylation en 6-alpha qui conduirait à l'acide hyodésoxycholique. L'origine de l'acide hyodésoxycholique demeure indéterminée. En raison de l'absence de ces métabolites bactériens, la composition de la bile en acides biliaires est plus simple chez l'axénique. Elle demeure cependant relativement complexe, puisque neuf taches apparaissent sur les chromatogrammes et que les éluats de huit d'entre elles réagissent avec la préparation enzymatique, et correspondraient à des acides biliaires.





Les modifications quantitatives déterminées par la flore microbienne ne sont pas moindres que les modifications qualitatives. L'intestin grêle du rat axénique contient près de trois fois la quantité totale des acides biliaires présents au niveau de cet organe chez le rat holoxénique. Comme il est généralement admis que 85 % des acides biliaires de l'organisme se trouvent au niveau de l'intestin grêle (134), le pool total des acides biliaires est donc beaucoup plus important chez le rat axénique. Cette augmentation peut s'expliquer par le fait que le rat axénique excrète environ deux fois moins d'acides biliaires que le rat holoxénique (111), à condition toutefois que la synthèse se maintienne à un niveau suffisant. Il est généralement admis que cette synthèse est l'objet d'une régulation par les acides biliaires eux-mêmes, mais le mécanisme exact de cette régulation est inconnu (202). De plus, du fait de l'absence des métabolites bactériens, diverses activités enzymatiques, qui existent chez le rat holoxénique, n'ont pas à s'exercer chez le rat axénique : il est en effet établi que, chez le premier, l'hépatocyte reconjugué les acides biliaires libres, réhydroxyle l'acide désoxycholique en 7 (13), l'acide lithocholique en 6 bêta, et réduit les cétones : le foie du rat axénique se trouve donc déchargé de toutes ces activités et il est possible que cela contribue à la formation d'un pool plus important d'acides biliaires.

Enfin, l'augmentation de la quantité d'acides biliaires au niveau de l'intestin grêle chez le rat axénique peut s'expliquer par la différence de vitesse d'absorption entre acides biliaires libres et conjugués. Il est admis que les acides biliaires conjugués sont absorbés par un mécanisme d'absorption active qui n'existe que dans la deuxième partie de l'intestin grêle (116). Au contraire, les acides biliaires libres, dont le pKa est beaucoup plus proche du pH intestinal, sont beaucoup moins ionisés et font l'objet d'absorption passive à tous les niveaux de l'intestin grêle, en sorte qu'ils sont beaucoup plus rapidement absorbés que les acides conjugués (46). En donnant à des rats porteurs d'une fistule urinaire des quantités équimoléculaires de taurocholate et de cholate de sodium, nous observons que le rapport  $\frac{\text{taurocholate}}{\text{cholate}}$  est égal à 0,8 dans l'estomac, à 5,9 dans le deuxième quart de l'intestin grêle à 4,3 dans le troisième et à 2,4 dans le quatrième, ce qui indique une meilleure absorption du cholate dans les régions antérieures de l'intestin grêle.

La déconjugaison contribue ainsi à diminuer la quantité des acides biliaires au niveau de l'intestin grêle, et à accélérer le retour vers le foie de ces métabolites. La façon plus lente dont se fait le transit intestinal chez le rat axénique, contribue encore à augmenter le temps de présence des acides biliaires conjugués au niveau de l'intestin grêle et donc,





leur quantité dans les régions antérieures de l'intestin grêle, où ils ne sont pas absorbés. Il est aussi possible que ce transit plus lent favorise une réabsorption plus complète des acides biliaires conjugués dans les zones postérieures où se fait l'absorption active.

Une autre modification quantitative importante est que chez le rat axénique, dans la bile, la proportion de l'acide bêta-muricholique et des acides dihydroxylés est plus grande, la proportion de l'acide cholique plus faible que chez l'holoxénique. La proportion plus faible d'acide bêta-muricholique chez le rat holoxénique pourrait provenir d'une attaque préférentielle de cet acide biliaire par les bactéries intestinales. La position de deux oxhydrides en position bêta sur deux carbones voisins pourrait faciliter une ouverture du cycle B. Il est connu que la 7-cétone de cet acide est très instable, et de nombreuses bactéries forment des cétones en 7. Chez les rats gnotoxéniques L 2 par exemple, il y a abondance d'acide 7 céto-, 3-12-alpha-dihydroxy-cholannique, qui s'est formé à partir de l'acide cholique. Enfin, la modification de la composition de la bile en ce qui concerne l'acide bêta-muricholique, les acides dihydroxylés et l'acide cholique, pourrait aussi provenir de différence concernant l'absorption intestinale des divers acides biliaires et leur action sur la régulation de la synthèse.

La comparaison entre les compositions en acides biliaires de la bile et du contenu intestinal du rat axénique et du rat axénique porteur d'une anse aveugle suggère que les vitesses d'absorption des différents acides biliaires conjugués ne sont pas égales. En effet, chez les rats axéniques porteurs d'une anse aveugle située dans la partie antérieure du jéjunum, c'est à dire dans une région où l'absorption active n'existe pas, les acides biliaires s'accumulent dans l'anse aveugle qui contient les quatre cinquièmes de la quantité totale présente dans l'intestin grêle, et la composition se rapproche de ce qu'elle est dans la bile. Au contraire, chez les rats axéniques non opérés, les acides biliaires transitent normalement vers la zone d'absorption active, et leur composition devient rapidement différente de ce qu'elle est dans la bile : les acides dihydroxylés, en particulier l'acide chénodésoxycholique disparaissent plus vite que l'acide cholique et celui-ci plus vite que l'acide bêta-muricholique. La composition des acides biliaires au niveau de l'intestin grêle de l'axénique se rapproche de la composition observée par KELLOG au niveau des fèces du rat axénique : cet auteur y trouve 60 p. 100 d'acide bêta-muricholique et n'y trouve pas d'acide chénodésoxycholique, alors que cet acide biliaire est présent dans les fèces des rats holoxéniques (111). Il est donc possible que la flore microbienne modifie l'absorption des acides biliaires conjugués par la muqueuse de l'intestin grêle.



Enfin, chez les sujets qui possèdent une flore microbienne, il existe des différences de composition entre les acides biliaires libres et les acides biliaires conjugués. Ces différences s'expliquent par le fait que toutes les espèces chimiques d'acides biliaires conjugués ne subissent pas la déconjugaison avec la même intensité (172), et qu'une même bactérie n'exerce pas les mêmes transformations selon qu'un acide biliaire est libre ou conjugué (129).

La présence d'une quantité trois fois plus importante de sels biliaires entièrement conjugués, dans le contenu intestinal du rat axénique, et l'absence de certains métabolites bactériens des acides biliaires pourraient expliquer différentes caractéristiques de l'animal axénique : les sels biliaires sont nécessaires à l'absorption du cholestérol (17), or, le cholestérol alimentaire est apparemment mieux absorbé chez l'axénique (59) et s'accumule dans le foie en quantité plus importante. L'administration per os d'acide cholique libre dans l'aliment de la souris axénique augmente la vitesse de renouvellement de l'épithélium intestinal, alors que l'acide taurocholique n'aurait pas cet effet (149). Or, chez la souris, comme chez le rat axénique, cette vitesse est plus faible et il n'y a pas d'acide cholique libre chez le sujet axénique. L'acide désoxycholique modifierait la vitesse du transit intestinal chez le rat holo-xénique en accélérant la vitesse du transit dans la partie distale de l'intestin grêle (62). Or, chez le rat axénique, la vitesse du transit de l'intestin grêle est plus lente et il n'y a pas d'acide désoxycholique.

Enfin, les sels biliaires jouent un rôle dans l'absorption du calcium et des lipides. WEBLING (199) et coll., montrent que les sels biliaires conjugués jouent un rôle dans la solubilisation de certains sels de calcium. Or, GARNIER et SACQUET (67) d'une part, REDDY et coll., (153), d'autre part, montrent que l'absorption apparente du calcium est meilleure chez les axéniques, qui, nous l'avons vu, contiennent davantage de sels biliaires conjugués.

HOFMANN (101, 104), HOFMANN et BORGSTROM (105, 106), DAWSON (38) ont étudié le rôle des sels biliaires dans la digestion et l'absorption des lipides. Bien que le mode d'action selon lequel les sels biliaires interviennent dans ces phénomènes soit imparfaitement connu, il est hors de doute que ce rôle est considérable. Il n'y a aucune preuve expérimentale directe qu'une augmentation des sels biliaires conjugués au-dessus des valeurs habituellement observées chez le sujet holoxénique augmente la digestibilité des acides gras.





Cependant, la présence dans l'intestin grêle du rat axénique d'une quantité plus importante de sels biliaires conjugués permettrait de comprendre que chez l'axénique les acides gras longs et saturés soient mieux absorbés. Les acides saturés longs forment peu de micelles : SAVARY et CONSTANTIN (170) rapportent que 1,5 millimoles d'acide palmitique sont solubilisés sous l'action des sels biliaires conjugués contre 15 millimoles d'acide oléique et 8 millimoles d'acide érucique. TOULLEC et coll., (194) montrent que, in vitro, l'addition de chlorure de calcium à une solution équimolaire des acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique donne lieu à la formation d'un précipité de savons de calcium formé pour 97,5 pour cent par les acides saturés du mélange. FLANZY et coll., (63) FAKAMBI (60) ont montré que la faible utilisation digestive des matières grasses saturées était en relation avec la formation de savons de calcium à partir des acides palmitique et stéarique ingérés. FAKAMBI, en particulier, a observé que lorsque l'on abaisse la teneur en calcium de la ration, le C.U.D. apparent global des matières grasses ingérées est amélioré, que la teneur en savons insolubles des fèces diminue et l'utilisation digestive apparente des acides palmitique et stéarique augmente. Il est donc possible de concevoir que sous l'action d'une quantité importante de sels biliaires conjugués, il reste moins de  $\text{Ca}^{++}$  disponible pour la formation de savons insolubles.

Nombre de faits expérimentaux s'expliquent bien si on admet cette façon de voir. En effet, le rapport 
$$\frac{\text{savons insolubles excrétés}}{\text{matières grasses ingérées}} \times 100$$
 demeure très bas, 5,3 et 5,9 chez les sujets axéniques. Il ne s'élève pas quand les acides gras longs, saturés, en  $\text{C}_{20}$  et  $\text{C}_{22}$ , qui, du fait de leurs propriétés physiques (point de fusion, encombrement stérique, inaptitude à former des micelles), sont toujours mal absorbés, sont présents dans la ration. Au contraire, dans ce cas, les acides gras les plus aptes à former des savons insolubles en forment moins, en sorte que la proportion des acides gras excrétés sous forme de savons insolubles cesse d'augmenter avec la longueur de la chaîne carbonée. Au contraire, chez les rats holoxéniques, cette limitation du calcium disponible pour former des savons insolubles n'existe pas : c'est la quantité totale des savons insolubles qui augmente quand les acides gras longs et saturés sont présents dans la ration : le rapport 
$$\frac{\text{savons insolubles excrétés}}{\text{matières grasses ingérées}} \times 100$$
 passe de 12 à 22 et cette augmentation se fait sans aucune diminution de la proportion des savons insolubles dont la chaîne carbonée contient dix huit carbones et moins. Tout se passe comme si les acides gras formaient une quantité maximale de savons insolubles.





Cette théorie pourrait, dans une certaine mesure, rendre compte du fait que chez les rats holoxéniques qui reçoivent le régime III, la formation d'une anse aveugle ne modifie pas la digestibilité des matières grasses saturées. La formation de l'anse aveugle entraîne une diminution de la quantité des sels biliaires conjugués. Mais, cette diminution des sels biliaires conjugués au-dessous des valeurs qu'ils présentent chez les holoxéniques non opérés ne peut jouer aucun rôle, puisque, chez ces derniers, il y a déjà suffisamment de calcium disponible pour une formation maximale de savons insolubles.

Les acides gras porteurs de double liaison cis, forment plus volontiers des micelles mixtes avec les sels biliaires que les acides gras saturés (183) et forment moins de savons insolubles. Leur utilisation digestive dépend pour une part importante de la présence en quantité suffisante de sels biliaires conjugués. Les acides biliaires libres ont une capacité très limitée de former des micelles (104). Chez les rats axéniques, qui contiennent davantage de sels biliaires conjugués, l'utilisation digestive des acides insaturés est meilleure que chez les rats holoxéniques. Mais les différences sont très faibles parce que la digestibilité des acides oléique et linoléique est déjà excellente chez les sujets holoxéniques. Par contre, une diminution de la concentration des sels biliaires conjugués entraînerait une diminution de la formation des micelles mixtes des sels biliaires et de certains acides gras insaturés, et aurait pour conséquence une diminution de l'absorption de ces acides gras insaturés. C'est ce qui se passerait chez les rats gnotoxéniques, et dans une mesure peut-être moindre chez les rats holoxéniques, qui, pourvus d'une anse aveugle, présentent la malabsorption.

Cette théorie sur le rôle des sels biliaires dans l'absorption des acides gras explique dont un certain nombre des faits observés. Au contraire, il n'est pas possible d'expliquer l'action défavorable de la flore sur la digestibilité apparente des acides gras saturés chez les sujets holoxéniques normaux, ni la malabsorption des acides gras insaturés chez les sujets gnotoxéniques N porteurs d'une anse aveugle, par une hydrogénation de ces acides insaturés sous l'influence des bactéries.

Chez les sujets qui reçoivent les régimes I et II, la digestibilité de l'acide stéarique est diminuée en présence de microflore. Cette diminution ne peut s'expliquer par une hydrogénation de l'acide oléique en acide stéarique par les bactéries intestinales, car dans ce cas, chez ces sujets holoxéniques la digestibilité de l'acide oléique serait meilleure que chez l'axénique, ce qui n'est pas le cas. L'hydrogénation de l'acide oléique par les bactéries des rats holoxéniques, si elle existe, n'est pas un phénomène suffisamment



important pour modifier la digestibilité apparente de cet acide.

De même, la comparaison entre les pourcentages des acides saturés chez les rats gnotoxéniques N et chez les rats axéniques permet d'écarter l'hypothèse que la malabsorption est en rapport avec une augmentation de la proportion des acides gras saturés.

L'association du rat axénique avec diverses bactéries, autrement dit, l'utilisation de sujets gnotoxéniques, permet de dissocier les diverses hypothèses émises dans le but d'expliquer comment, dans le syndrome de l'anse aveugle, les bactéries intestinales modifient la digestibilité des lipides alimentaires. Cette méthode d'analyse montre que ni la saturation des acides gras, ni la présence d'acide désoxycholique ne sont des conditions nécessaires à l'établissement de la malabsorption.

Il apparaît qu'une malabsorption au moins égale à celle qui est observée chez les rats holoxéniques peut être obtenue chez des sujets gnotoxéniques qui présentent une diminution importante de la quantité des sels biliaires conjugués présente au niveau de l'intestin grêle. Une telle observation renforce l'opinion que la diminution des sels biliaires conjugués est un des facteurs les plus importants de la pathogénie de ce trouble. Cette observation s'accorde avec celles que font KIM et coll. (114), chez des chiens porteurs d'anse aveugle, qui présentent une stéatorrhée : la proportion des acides biliaires conjugués par rapport aux acides biliaires totaux varie de 2,5 à 94,4 % chez les sujets à jeun, et chez un chien qui excrète 29 % de la graisse ingérée, varie, au cours du repas de 41 à 57 %. TABAQCHALI et coll., (186) mesurent la concentration des sels biliaires conjugués chez l'homme souffrant du syndrome de l'anse aveugle : cette concentration tomberait au-dessous de 5 micromoles par ml de contenu jéjunal chez les sujets malades, alors que, d'après BADLEY et coll., (7), elle varie entre 12 et 5 micromoles chez le sujet sain, et qu'une concentration de 4 micromoles par ml serait nécessaire à l'absorption normale des produits de la lipolyse de l'huile de maïs. Cette concentration constituerait "la concentration physiologique critique". Un autre point d'accord avec TABAQCHALI, est que, pour que la malabsorption se produise, la diminution des sels biliaires conjugués doit se produire à tous les niveaux de l'intestin grêle, en sorte qu'il n'existe aucun point où puissent se former des micelles mixtes entre les produits de la lipolyse et les sels biliaires conjugués. La distribution des quantités de taurocholate suggère que chez les sujets gnotoxéniques J et L 2, il en est bien ainsi.





Il existe donc un certain nombre d'arguments selon lesquels la diminution des sels biliaires conjugués chez les rats gnotoxéniques J et L 2 correspond à ce qui s'observe chez l'homme ou chez le chien qui présentent le symptôme de stéatorrhée. Cependant, chez les rats holoxéniques porteurs d'anse aveugle, la diminution des sels biliaires conjugués apparaît moins importante que chez les rats gnotoxéniques. Ce fait qui s'observe quand on considère les quantités de taurocholate, devient encore plus net quand on considère l'ensemble des sels biliaires conjugués. Ce désaccord peut s'expliquer en partie par l'extrême irrégularité des faits observés au niveau de l'intestin grêle chez le rat : bien que le rat ne possède pas de vésicule biliaire et que la bile s'écoule régulièrement dans son intestin grêle, la répartition du taurocholate dans les divers segments de cet organe varie. La présence d'une anse aveugle accroît cette irrégularité. Il est possible que la légère augmentation de l'excrétion fécale de graisse, qui se produit chez le rat axénique pourvu d'une anse aveugle, soit en rapport avec cette irrégularité accrue. Chez les rats holoxéniques et gnotoxéniques, à ces variations causées par le transit, s'ajoutent les variations causées par la flore microbienne au niveau des divers segments intestinaux. Le nombre total de bactéries cultivables varie de 1 à 100 et celui de certains genres bactériens varie de 1 à 100.000. Ces variations très importantes qui sont observées entre divers sujets, se produisent très vraisemblablement chez un même sujet, au cours du temps. Chez un même rat holoxénique, la population microbienne varie considérablement d'un segment à l'autre de l'intestin grêle, ce qui laisse peu de doute que, du fait du transit intestinal, elle varie au même endroit d'un moment à un autre. De telles variations, au cours du temps, ont été observées chez l'homme, chez lequel les prélèvements peuvent être répétés (70). Ces variations de la flore microbienne que nous observons d'un sujet à un autre, et qui se produiraient très certainement chez un même sujet au cours du temps s'accompagneraient d'une variation de la quantité de taurocholate amidase, ce qui expliquerait que chez les rats porteurs d'une anse aveugle, la quantité de taurocholate varie de 1 à 3 chez les sujets holoxéniques, de 1 à 9 chez les sujets gnotoxéniques, et que ces mesures faites à un moment donné, le moment où le prélèvement est effectué, ne reflètent que très imparfaitement un phénomène qui varie au cours du temps. L'excrétion fécale de graisse, qui correspond à une période de quatre jours, est elle-même, très irrégulière d'un prélèvement à un autre.

Ainsi, s'il est hors de doute que, chez les sujets holoxéniques et gnotoxéniques porteurs d'une anse et présentant une excrétion des matières grasses fécales trois à cinq fois supérieure à la normale, il existe une diminution de la quantité de taurocholate, et, d'une manière générale, une diminution des sels biliaires conjugués, il convient d'être d'une grande prudence dans l'interprétation quantitative du phénomène, en raison de sa variabilité.





L'analyse des acides biliaires met enfin en évidence l'absence de l'acide désoxycholique chez les rats gnotoxéniques L2 et J et sa présence accrue au niveau de l'intestin grêle des rats holoxéniques. L'absence d'acide lithocholique n'a pu être établie, mais est très vraisemblable. En effet, il est admis que cet acide biliaire se forme par déshydroxylation en 7 de l'acide désoxycholique, c'est à dire par la même action enzymatique qui forme l'acide désoxycholique à partir de l'acide cholique : l'absence d'acide désoxycholique implique donc l'absence d'acide lithocholique.

Les faits expérimentaux que nous rapportons établissent que la présence d'acide désoxycholique n'est pas nécessaire à l'établissement de la malabsorption. La présence de cet acide biliaire joue-t-elle cependant un rôle chez les rats holoxéniques dans la pathogénie de la malabsorption, comme permettent de le supposer les expériences de DONALDSSON (50) et de DIETSCHY (45) ? La question demeure très ouverte : GALLAGHER et DAWSON n'ont pas obtenu de stéatorrhée en donnant de l'acide désoxycholique dans la ration des rats holoxéniques (66). Il a fallu à SHINER (174) employer des doses massives, deux administrations de 12,5 mg de cet acide par jour pendant 4 jours pour observer dans les entérocytes du jéjunum des gouttelettes lipidiques, dont la présence traduirait une inhibition de l'estérification des acides gras dans ces cellules, qui par ailleurs, ne présentaient aucune lésion. Cet auteur n'a observé aucune lésion des entérocytes de l'homme ou du rat qui présentait le syndrome de l'anse aveugle. Nous n'avons pas réussi à élever l'excrétion fécale de graisse des rats gnotoxéniques M en leur faisant ingérer avec leur aliment une dose journalière de 15 mg de désoxycholate. Des doses plus importantes entraînent des effets secondaires : le rat réduit son alimentation, le transit stomacal est perturbé. L'emploi de bactéries qui produisent une quantité importante de désoxycholate et qui s'établissent bien au niveau de l'intestin grêle est sans doute la seule manière satisfaisante de réaliser cette étude et de permettre de maintenir au niveau de l'intestin grêle une concentration importante d'acide désoxycholique tout en évitant les troubles que provoque, au niveau de l'estomac, une ingestion massive de cet acide biliaire.

## - C O N C L U S I O N S -

— — — — —

L'étude qui vient d'être présentée, est une illustration de la méthode qui consiste, pour comprendre le rôle qu'exerce la flore microbienne du tractus digestif sur la physiologie de l'hôte, à comparer des sujets axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques.



Certains des caractères métaboliques qui ont été observés dans cette étude auraient pu être étudiés sans le concours des sujets axéniques. Le marquage isotopique, seule méthode qui permette une mesure véritable de l'hydrogénation des acides gras insaturés par la flore microbienne, aurait très bien montré l'importance qu'il convient d'accorder à ce phénomène dans les modifications de l'absorption apparente des acides gras sous l'action de la microflore chez nos sujets holoxéniques. La déviation de la bile hors du tractus digestif au moyen d'une fistule cholédoque-vessie urinaire fait disparaître au bout de quelques jours les métabolites bactériens des acides biliaires, et permet, par conséquent, de les distinguer des acides biliaires qui sont propres à l'organisme du rat. Mais aucun des autres caractères qui sont décrits dans cette étude n'aurait pu être étudié par l'emploi d'une autre méthode. Celle-ci ouvre donc des perspectives nouvelles à la physiologie de la nutrition.

Comme nous l'avons laissé entendre au chapitre précédent, les acides biliaires qui font partie des substances entrant dans le cycle entéro-hépatique, subissent, sous l'action de la microflore, des transformations très importantes. Un aspect particulièrement intéressant de ces transformations est que les acides biliaires du rat axénique ne diffèrent pas des acides biliaires du rat holoxénique par la simple absence des métabolites bactériens. Les acides biliaires qui sont le résultat exclusif de l'activité métabolique de l'organisme animal subissent de très importantes modifications quantitatives. La voie métabolique qui aboutit à l'acide bêta-muricholique l'emporte sur la voie qui aboutit à l'acide cholique. Ceci illustre le propos que l'organisme axénique n'est pas l'organisme holoxénique auquel simplement manque la microflore, mais est un organisme différent, doté de propriétés originales. Il importe de le bien connaître avant de l'utiliser dans le travail expérimental. C'est ainsi que diverses expériences dans lesquelles l'activité spécifique de l'acide cholique était étudiée comparativement chez le rat axénique et le rat holoxénique, sont reconnues aujourd'hui comme inexactes, parce qu'à l'époque où elles furent faites, l'importance des acides muricholiques chez le rat axénique n'était pas établie, et que les systèmes chromatographiques utilisés ne séparaient pas les acides muricholiques et l'acide cholique, qui étaient mesurés ensemble.

La nécessité de connaître la flore microbienne des sujets holoxéniques et gnotoxéniques pour comprendre le mode d'action de la microflore sur la physiologie de l'hôte apparaît également dans ce travail : chez les sujets holoxéniques ou gnotoxéniques porteurs d'une anse aveugle, il existe une très





importante flore microbienne au niveau de l'intestin grêle. Mais pour diverses raisons, telles que les irrégularités du transit gastro-intestinal ou les incessantes interactions bactériennes, cette microflore est quantitativement et qualitativement très variable. Cette extrême variabilité permet de concevoir que la diminution de la quantité des acides biliaires conjugués au niveau des divers segments de l'intestin grêle soit elle-même très variable.

La nécessité de vérifier si les caractères qui sont observés chez les sujets gnotoxéniques existent bien chez les sujets holoxéniques ressort du fait que, pour autant qu'il soit possible d'en juger, la diminution des sels biliaires conjugués est plus importante chez les rats gnotoxéniques que chez les rats holoxéniques qui présentent une semblable excrétion fécale de graisse, et que par conséquent, chez les rats holoxéniques il entre, peut être, d'autres facteurs dans la pathogénie de la malabsorption.

Les limites de cette méthode sont aussi faciles à percevoir. Elles sont d'abord liées aux difficultés de l'analyse bactériologique de la microflore du tractus digestif : il serait souhaitable pour compléter cette étude de disposer de bactéries qui soient capables d'hydrogéner très activement les acides gras insaturés, ou de produire de l'acide désoxycholique. L'isolement de souches bactériennes qui possèdent ces propriétés conditionne le développement de ces expérimentations.

Elles résultent aussi des difficultés qui sont obtenues dans l'implantation des souches bactériennes dans le tractus digestif, et en particulier des problèmes que posent les interactions bactériennes.

Elles proviennent enfin, du fait que l'introduction chez le sujet axénique d'une bactérie ou d'un mélange de bactéries ne modifie pas qu'un trait de l'hôte, mais plusieurs. Or, une étude rigoureuse demanderait que tous les facteurs de la digestion et de l'absorption des lipides soient étudiés ensemble chez un même groupe de sujets, en n'en faisant varier successivement qu'un seul par un choix judicieux de la microflore. Il n'en a pas été ainsi dans cette étude : certains facteurs n'ont pas été étudiés. C'est le cas des modifications éventuelles de la vitesse du renouvellement de l'épithélium intestinal, et nous ignorons les conséquences que ces modifications pourraient avoir sur l'absorption des lipides. Les bactéries présentes chez les rats gnotoxéniques J et L 2, non seulement réduisent la quantité des sels biliaires conjugués, mais forment divers métabolites dont nous ignorons aussi le rôle dans le phénomène que nous étudions. Dans l'état actuel de nos connaissances, il paraît difficile d'obtenir des sujets gnotoxéniques qui ne diffèrent entre eux que par un seul caractère.



Pour atteindre une pareille rigueur, bien des progrès restent à accomplir. Mais l'histoire des animaux axéniques nous donne bien des exemples que ce qui était impossible hier, est la réalité d'aujourd'hui. Les premiers chercheurs qui entreprirent d'élever des animaux à l'état axénique à une époque où la notion de vitamine n'était pas connue, rencontrèrent des difficultés autrement redoutables que celles que nous évoquons ici.

[illegible]



— 2 —

- 1) - ABRAMS (G.D.), BAUER (N.), SPRINZ (H.) - Influence of the normal flora on mucosal morphology and cellular renewal in the ileum. Lab. Invest., 1963, 12, 355
- 2) - ABRAMS (G.D.) and BISHOP (J.E.) - Effect of normal microbial flora on gastrointestinal motility. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1967, 126, 301-304
- 3) - AITKEN (M.A.), BADENOCH (J.) et SPRAY (CH.) - Fat excretion in rats with intestinal culs-de-sac. Brit. J. Exp. Path., 1950, 31, 355-357 .
- 4) - ASANO (T.) - Inorganic ions in cecal content of gnotobiotic rats.- Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1967, 124, 424-430
- 5) - ASANO (T.) - Anion concentration in cecal content of germ-free and conventional mice.- Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 131, 1201-1205
- 6) - ASANO (T.) - Modification of cecal size in germ-free rats by long-term feeding of anion exchange resin. Ann. J. Physiol., 1969, 217, 911-918
- 7) - BADLEY (B.W.B.), MURPHY (G.M.), BOUCHIER (I.A.D.), Intraluminal bile salt deficiency in the pathogenesis of steatorrhea. The Lancet, 23 August 1969, 400-402
- 8) - BAGGIOLINI (M.), AEBI (H.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) - Beteiligung der darmflora an peroxydatischen unsetzungen (Formiatoxydation) baider ratte. Helvetica Physiologica et Pharmacologica Acta 1964, 22, 53-65.
- 9) - BARBER-RILEY (G.A.E.), GOETZE (T.G.), THOMSON (R.J.Y.) - The transfer of sulfobromophtalein from the plasma to the bile in man. Clin. Sci., 1961, 20, 149.
- 10) BARGETON (D.) et KRUMM-HELLER (C.) - Appareil pour la détermination du métabolisme des petits animaux par courts intervalles de temps. J. Physiol., 1949, 41, 119-124
- 11) BELCHER (R.), NUTTEN (A.J.) et SAMBROOK (C.M.) - The determination of glucosamine. The analyst, 1954, 79, 201.
- 12) BENOTTI (J.) and PINO (S.) - A simplified method for butanol-extractible iodine and butanol-insoluble iodine. Clinical chemistry 1966 12, 493-496.
- 13) BERGSTROM (S.), ROTTENBERG (M.), SJOVALL (J.) - Über den stoffwechsel der Cholsäure und Desoxycholsäure, in der Ratte, X. Mitteilung über Steroide und Gallensäuren Hoppe Seylers Z Physiol. Chem., 1953, 295, 278-285
- 14) BIAL (C.) cité par DISCHE (Z.) - Color reactions of pentoses in "Methods in carbohydrate chemistry", Academic Press, 1962, p.484





- 15) BISHOP (R.F.) - Bacterial flora of the small intestine of dogs and rats with intestinal blind loops. Brit. J. exp. Path., 1963, 44, 189-196
- 16) BONAMY (C.) - Recherches sur l'hydrolyse de la procaine par le sérum sanguin. Thèse - Dr. Pharmacie, 1950.
- 17) BORGSTROM (B.) - Quantitative aspects of the intestinal absorption of cholesterol and beta-sitosterol in the rat. Jl. of Lipid. Res., 1962, 2, 473-481
- 18) BORGSTROM (B.), DAHLQUIST (A.), GUSTAFSSON (B.E.), LUNDH (G.) and MALMQUIST (G.) - Trypsin invertase and amylase content of feces of germfree rats Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 102, 154-155
- 19) BORNSIDE (G.H.) and COHN (I. Jr.) - The normal microbial flora. Comparative bacterial flora of animals and man. Amer. J. dig. Dis., 1965, 70, 844-852
- 20) BOYD (F.M.), EDWARDS (Jr. H.M.) - Fat absorption by germ-free chicks. Poult. Sci., 1967, 46, 1481-1483
- 21) BRUCKNER-KARDOSS (E.) and WOSTMANN (B.S.) - Cecetomy of germ free rats. Lab. Animal. care., 1967, 17, 542
- 22) BRODIE (B.B.), HOGBEN (C.A.) - Some physico-chemical factors in drug action The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1957, 9, 345-380
- 23) BULLOUGH (W.S.) and EBLING (F.J.) - Cell replacement in the epidermis and sebaceous gland of the mouse. J. Anat., 1952, 86, 2934
- 24) CAMERON (D.G.), WATSON (G.M.) and WITTS (L.J.) - The experimental production of macrocytic anemia by operations on the intestinal tract. Blood, 1949, 4, 803-815
- 25) CARROLL (K.K.), RICHARDS (J.F.) - Factors affecting digestibility of fatty acids in the rat. J. Nutr., 1958, 64, 411-424
- 26) CHENG (A.L.S.), MOREHOUSE (M.G.), DEUEL jr. (H.J.) - The effect of the level of dietary calcium and magnesium on the digestibility of fatty acids, simple triglycerides and some natural and hydrogenated fats. J.Nutr., 1949, 37, 237
- 27) COLE (Jr. J.R.), BOYD (F.M.) - Fat absorption from the small intestine of gnotobiotic chicks. Appl. Microbiol., 1967, 15, 1229-1234
- 28) COMBE (E.), PENOT (E.), CHARLIER (H.), SACQUET (E.) - Metabolisme du rat "germ-free". Ann. Biol. and. Bioch. Biophys., 1965, 5, 189-206
- 29) COMBE (E.), SACQUET (E.) - Influence de l'état axénique sur divers composés azotés contenus dans le caecum des rats albinos recevant des quantités variables de protéines. C.R. Acad. Sciences Paris, 1966, 266, 685-688.
- 30) COMBES (B.) - The biliary excretion of sulfobromophthalein sodium (B.S.P.) in the rat as a conjugate of glycine and glutamic acid. J.Clin. Invest., 1959, 38, 1426
- 31) COMBES (B.), STAKELUM (G.S.) - A liver enzyme that conjugates sulfobromophthalein sodium with glutathione. J. Clin. Invest., 1961, 40, 981
- 32) COMOY (E.) - Méthode automatique pour la détermination de l'iode sérique et urinaire. Revue Française d'études Chimiques et biologiques, 1967, 12, 189-192.



- 33) CONTREPOIS (M.) et GOUET (P.) - Utilisation d'une technique microbiologique pour la mesure de la vitesse de transit des microparticules dans le tractus digestif des ruminants. C.R. Acad. Sc. Paris, 1969, 268, 1757-1759
- 34) CROCKETT (M.E.), DEUEL Jr. (H.J.) - A comparison of the coefficient of the digestibility and the rate of absorption of various natural and artificial fats as influenced by the melting point. J. Nutr., 1947, 33, 187
- 35) CROTTE (C.), MULE (A.), PLANCHE (N.E.) - Générateur de diazométhane destiné à la chromatographie en phase gazeuse des produits biologiques. Soc. Chim. Biol., 1970, 52, 108-109
- 36) DAHLQVIST (A.), BULL (B.) and GUSTAFSSON (L.E.) - Rat intestinal 6-Bromo-2-naphthyl glycosidase and dissacharidase activities. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1965, 109, 150-158
- 37) DANOWSKI (T.S.), JOHNSTON (S.Y.), GREENMAN (J.H.) - Alterations in serum iodine fractions induced by administration of inorganic iodide in massive dosage. J. Clin. Inv., 1950, 10, 519
- 38) DAWSON (A.M.) - Absorption of fats. Brit. med. Bull., 1967, 23, 247-251.
- 39) DEMARNE (Y.), SACQUET (E.), FLANZY (J.), GARNIER (H.), FRANCOIS (A.C.) - Influence de la flore intestinale sur l'utilisation digestive des acides gras chez le rat. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 1970, 10, 175-177.
- 40) DEMARNE (Y.), SACQUET (E.), FLANZY (J.), GARNIER (H.), FRANCOIS (A.C.) - Utilisation digestive apparente des acides gras chez le rat axénique et le rat holoxénique. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 1970, 10, 369-384
- 41) DEMARNE (Y.), SACQUET (E.), FLANZY (J.), GARNIER (H.), FRANCOIS (A.C.) - Type de matière grasse et stéatorrhée : 1) effet de l'ingestion d'une matière grasse saturée. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. (à paraître), 1971.
- 42) DEMARNE (Y.), SACQUET (E.), FLANZY (J.), GARNIER (H.), FRANCOIS (A.C.) - Type de matière grasse et stéatorrhée : 2) Effet de digestion d'huile de colza. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. (à paraître) 1971.
- 43) DESPLACES (A.), ZAGURY (D.), SACQUET (E.) - Etude de la fonction thyroïdienne du rat privé de bactéries. C.R. Acad. Sci., 1963, 257, 756-758.
- 44) DEUEL Jr. (H.J.), JOHNSON (R.M.), CALBERT (C.E.), THOMAS (B.) - Studies on the comparative nutritive value of fats. The digestibility of rapeseed and cottonseed oils in human subjects. J. Nutr., 1949, 38, 369
- 45) DIETSCHY (J.M.) - Effects of bile salts on intermediate metabolism of the intestinal mucosa. Fedn. Proc., 1967, 26, 1589-1598
- 46) DIETSCHY (J.M.) - Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids. Jl. of Lipid. Res., 1968, 9, 297-309
- 47) DONALDSON Jr (R.M.) - Excretion of tryptamine and indole-3-acetic acid in urine of rats with intestinal diverticula - Amer. J. Physiol., 1962, 202, 289-292
- 48) DONALDSON (R.M.) Jr - Malabsorption of labeled vitamin B 12 in rats with in-





testinal diverticula. - J. Clin. Invest., 1961, 40, 1034

- 49) DONALDSON Jr (R.M.) - Malabsorption of Co 60 labeled cyanocobalamin in rats with intestinal diverticula.- I - Evaluation of possible mechanisms. Castroenterology, 1962, 43, 271-281.
- 50) DONALDSON (R.M.) Jr - Studies of the pathogenesis of steatorrhea in the blind loops syndrome. - Journal of Clinical Investigation, 1965, 44 1815-1825
- 51) DONALDSON (R.M. Jr) - Role of enteric microorganisms in malabsorption. Fed. Proc., 1967, 26, 1426-1431
- 52) DONALDSON (R.M. Jr), CORRIGAN (H.), NATSIOS (C.) - Malabsorption of Co 60 labeled cyanocobalamin in rats with intestinal diverticula. II Studies on contents of the diverticula. Gastroenterology 43, 1962, 282-290.
- 53) DONALDSON (R.M. Jr), DOLCINI (H.) & GRAY (S.J.) - Urinary excretion of indolic compounds in rats with intestinal pouches. Amer. J. Physiol., 1961, 200, 794-796.
- 54) DUCLUZEAU (R.) et RAIBAUD (P.) - Ensemencement de douze souches bactériennes dans le tube digestif de souris axéniques. II - Equilibre obtenu entre ces souches dans différents segments du tube digestif. Ann. Inst. Pasteur, 1969, 116, 370-382
- 55) ENEROTH (P.) and SJOVALL (J.) - Methods of analysis in the biochemistry of bile acids. 2. Methods in Enzymology, 1969, XV, 237-280
- 56) ERIKSSON (H.) and GUSTAFSSON (J.A.) - Steroids in germfree and conventional rats. Eur. J. Biochem., 1970, 15, 132
- 57) EVRARD (E.), HOET (P.P.), EYSEN (H.), CHARLIER (H.), SACQUET (E.) - Fecal lipids in germ-free and conventional rats. Brit. J. Exp. Pathol 1964, 45, 409-414
- 58) EYSEN (H.), EVRARD (E.), SACQUET (E.), RAIBAUD (P.), CHARLIER (H.), DICKINSON (A.) and HOET (P.P.) - Studies on conventional and gnotobiotic rats : effect of intestinal bacteria on fecal lipids and fecal sterols Ernährungsforschung, 1965, 10, 257-263.
- 59) EYSEN (H.), SACQUET (E.), EVRARD (E.) and VAN DEN BOSCH - Effect of Neomycin on cholesterol levels and bile acids excretion in germfree and conventional rats. Life Sciences, 1968, 7, 1155-1162
- 60) FAKAMBI (L.) - Mise en évidence de l'excrétion fécale de savons de calcium chez le rat, et son incidence sur l'utilisation digestive des acides gras, du calcium et du phosphore. Thèse de 3ème cycle, Faculté des sciences de l'Université de Paris, 1970.
- 61) FEDDE (M.R.), WAIBEL (P.E.), BURGER (R.E.) - Factors affecting the absorbability of certain dietary fats in the chick. J. Nutr., 1960, 70, 447
- 62) FELDMAN (S.) and GIBALDI (M.) - Effects of bile salts on gastric emptying and intestinal transit in the rat. Gastroenterology, 1968, 54, 918-921.
- 63) FLANZY (J.), RERAT (A.), FRANCOIS (A.C.) - Etude de l'utilisation digestive des acides gras chez le porc. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys. 1968, 8, 537-548



- 64) FLEISCHMANN (A.I.), YAKOWITZ (H.), HAYTON (T.), BIERENBAUM (M.L.) - Effect of dietary calcium upon lipid metabolism in mature male rats fed beef tallow., 1966, J. Nutr., 88., 255-260
- 65) FOLCH (J.), LESS (M.), SLOANE-STANLEY (G.H.) - A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues., 1957, J. Biol. Chem., 31, 441-444
- 66) GALLAGHER (N.), DAWSON (A.M.) - cité par DAWSON (A.M.) in Bile salts and fat absorption. Gut., 1967, 8, 1-3
- 67) GARNIER (H.), SACQUET (E.) - Absorption apparente et rétention du sodium, du potassium, du calcium et du phosphore chez le rat axénique et chez le rat holoxénique. C.R. Acad. Sci. Paris, Série D., 1969, 269, 379-382
- 68) GIBBONS (R.J.), SOCRANSKY (S.S.), KAPSIMALIS (B.) - Establishment of human indigenous bacteria in germ-free mice. Jl of Bacteriology, 1964, 88, 1316-1323
- 69) GIRAUDET (P.), PRE (J.) et CORNILLLOT (P.) - Ultramicrodétermination directe automatique et manuelle du chlore dans les liquides biologiques. Clinica Chimica Acta., 1970, 28, 323-327
- 70) GORBACH (S.L.), PLAUT (A.G.), NAHAS (L.), WEINSTEIN (L.), SPANKNEBEL (G) and LEVITAN (R.) - Studies of intestinal microflora. II. Microorganisms of the small intestine and their relations to oral and fecal flora. Gastroenterology, 1967, 53, 856-867
- 71) GORDON (H.A.) - Morphological and Physiological characterisation of germfree life. in Annals of the N.Y. Sc., 1959, 78, 217-218
- 72) GORDON (H.A.) - A substance acting on smooth muscle in intestinal contents of germ free animals. Annals of the New York Acad of Scie., 1967, 147, 83-106
- 73) GORDON (H.A.) and BRUCKNER-KARDOSS (E.) - Effects of the normal microbial flora on various tissue elements of the small intestine. Acta. Anat 1961, 44, 210-225.
- 74) GORDON (H.A.) and BRUCKNER-KARDOSS (E.) - Effect of normal microbial flora on intestinal surface area. Amer. J. Physiol., 1961, 201, 175-178.
- 75) GORDON (H.A.) WOSTMANN (B.S.) & BRUCKNER-KARDOSS (E.) - Effect of microbial flora on cardiac output and other elements of blood circulation. - Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1963, 114, 301-304
- 76) GORDON (H.A.), BRUCKNER-KARDOSS (E.), STALEY (T.E.) WAGNER (M.) WOSTMANN (B.S.) Characteristics of the germ-free rat. Acta Anat. 1966, 64, 301
- 77) GORDON (H.A.) and KODAS (E.) - A bioactive pigment ("Alpha Pigment") in cecal contents of germ free animals. Biochem. Pharmacology, 1968, 17, 2333-2437
- 78) GORDON (H.A.) and WOSTMANN (B.S.) - Responses of the animal host to changes in the bacterial environment : transition of the albino rat from the germ-free to the conventional state. "Recent Progress in Microbiology", G. Tunsuwall edit., 1959, p. 336-339





- 79) GORDON (H.A.) and WOSTMANN (B.S.) - Morphological studies on the germfree albino rat. Anat. Rec., 1960, 137, 65-70
- 80) GRABER (C.D.), O'NEAL (R.M.) and RABIN (E.R.) - Effect of high fat diets on intestinal microflora and serum cholesterol in rats. J.Bact. 1965, 89, 47-51
- 81) GRIESEMER (R.A.) and GIBSON (J.P.) - The gnotobiotic dog. Lab. Anim. Care, 1953, 13, 643-649.
- 82) GRUNDY (S.M.), AHRENS (E.H.), MIETTINEN (T.A.) - Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids Jl. of Lipid Research., 1965, 6, 397
- 83) GUEGEN (L.) et ROMBAUTS (P.) - Dosage du sodium, du potassium, du calcium et du magnésium par spectrophotométrie de flamme dans les aliments, le lait et les excreta. Ann. Biol. Anim. Bioch. Bioph. 1961, I, 81
- 84) GUENET (J.L.), SACQUET (E.), GUENEAU (G.), MESLIN (J.C.) - Action de la microflore totale du rat sur l'activité mitotique des cryptes de Lieberkühn. C.R. Acad. Sc. Paris, 1970, 270, 3087-3090
- 85) GUSTAFSSON (B.E.) - Germ-free rearing of rats . General technique. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl., 1948, 73, 1-130.
- 86) GUSTAFSSON (B.E.) - Introduction of specific microorganisms into germ free animals. Ciba, Foundation Study, 1967, 31, 3-17
- 87) GUSTAFSSON (B.E.), BERGSTROM (S.), LINDSTEDT (S.) and NORMAN (A.) - Turnover and nature of fecal bile acids in germfree and infected rats fed cholic acid-24-C 14. - Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1957 94, 467-471.
- 88) GUSTAFSSON (B.E.), DAFT (F.S.), McDANIEL (E.G.), SMITH (J.C.) and FITZGERALD (R.J.) - Effects of vitamin K active compounds and intestinal microorganisms in vitamin K deficient germ-free rats. J. Nutr. 1962 78, 461-468
- 89) GUSTAFSSON (B.E.), MIDVEDT (T.), NORMAN (A.) - Isolated fecal microorganisms capable of 7 dehydroxylating bile acids. J. Exp. Med., 1966 123, 413 - 431.
- 90) GUSTAFSSON (B.E.), NORMAN (A.), SJOVALL (J.) - Influence of E.coli on turnover and metabolism of cholic acid in germfree rats.- Arch.Biochem Biophys., 1960, 91, 93
- 91) GUSTAFSSON (B.E.) and NORMAN (A.) - Comparison of bile acids in intestinal contents of germ free and conventional rats.- Proc. Soc. Exp Biol. Med. 1962, 110, 387-389.
- 92) GUSTAFSSON (B.E.) et NORMAN (A.) - Influence of the diet on the turnover of bile acids in germ-free and conventional rats. Brit. Jl. of Nutr., 1969, 23, 429-442.
- 93) GUSTAFSSON (B.E.), GUSTAFSSON (J.A.) and SJOVALL (J.) - Steroids in germ free and conventional rats.- European J. Biochem., 1968, 4, 568-573
- 94) GUSTAFSSON (J.A.) and SJOVALL (J.) - Steroids in germfree and conventional





- rats. Identification of C 19 Steroids in feces from germfree rats. - European J. Biochem., 1968, 6, 227
- 95) GUSTAFSSON (J.A.) and SJOVALL (J.) - Steroids in Germfree and conventional rats. Identification of 15 and 21-hydroxylated C 21 steroids in feces from Germfree rats. European J. Biochem., 1968, 6, 237
- 96) HAMILTON (J.G.) - The effect of oral neomycin on the conversion of cholic acid to deoxycholic in man. - Arch. Biochem. Biophys., 1963, 101, 7
- 97) HENEGHAM (J.B.) - Influence of microbial flora on xylose absorption in rats and mice. - The American Journal of Physiology, 1963, 205, 417-419.
- 98) HILL (M.J.) and DRASAR (B.S.) - Degradation of bile salts by human intestinal bacteria. The JI of the Brit. Soc. of Gastroenterology, Gut, 1968, 9, 22-27
- 99) HOET (P.P.), JOOSSENS (J.V.), EVRARD (E.), EYSEN (H.) and DE SOMER (P.) - Intestinal bacteria and faecal fat. Biochemical problems of lipids, 1963, 1, 73-83
- 100) HOET (P.P.), and EYSEN (H.) - Steatorrhea in rats with an intestinal cul-de-sac. The JI of the Brit. Soc. of Gastroenterology, Gut, 1964, 5, 309-314
- 101) HOFMANN (A.F.) - The behavior and solubility of monoclycerides in dilute, micellar bile salt solution.- Biochim., Biophys., Acta, 1963, 70 306-316
- 102) HOFMANN (A.F.) - Thin layer adsorption chromatography of free and conjugated bile acids on silicic acid. J. Lipid. Research, 1963, 2, 127-128
- 103) HOFMANN (A.F.) - Thin layer chromatography of bile acids and their derivatives in New Biochemical Separations. A. James and L.Morris editors, D. van No Strand Co. Ltd. London, 1964, p. 261-282
- 104) HOFMANN (A.F.) - A physiochemical approach to the intraluminal phase of fat absorption. Gastroenterology, 1966, 50, 56-64
- 105) HOFMANN (A.F.), BORSTROM (B.) - Physico-chemical state of lipids in intestinal contents during their digestion and absorption. Fed. Proc., 1962 21, 43
- 106) HOFMANN (A.F.), BORGSTROM (B.) - Hydrolysis of long chain monoglycerides in micellar solution by pancreatic lipase. Bioch. Biophys. Acta, 1963, 70, 317-331
- 107) IRWIN (J.L.), JOHNSTON (C.J.), KOPALA (J.) - A photometric method for the determination of cholates in bile and blood. J. Biol. Chem. 1944, 153, 439
- 108) KAYSER (C.) - Physiologie. Fonction de Nutrition, 1963, Flammarion p. 865
- 109) KELLOGG (T.F.), KNIGHT (P.L.), WOSTMANN (B.S.) - Effect of bile acid deconjugation on the fecal excretion of steroids. Jl. of Lipid. Research 1970, 11, 362-366
- 110) KELLOG (T.F.) et WOSTMANN (B.S.) - Lipid metabolism p.181-196 in The germfree Animal in Research. COATES (M.E.), GORDON (H.A.), WOSTMANN (B.S.) edit. Academic Press., 1968.



- 11) KELLOG (T.F.) et WOSTMANN (B.S.) - Fecal neutral steroids and bile acids from germ-free rats. 1969, J. Lipid Res., 10, 495-503
- 12) KENT (T.H.), OSBORNE (J.W.), WENDE (C.M.) - Intestinal flora in whole-body and intestinal X-irradiated rats. - Radiat Res. 1968, 35, 635-651
- 13) KENT (T.H.), SUMMERS (R.W.), DENBESTEN (L.), SWANER (J.C.) and HROUDA (M.) - Effect of antibiotics on bacterial flora of rats with intestinal blind loops. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1969, 132, 63-67
- 14) KIM (Y.S.), SPRITZ (N.), BLUM (A.), TERZ (Z.), SHERLOCK (J.) - The role of altered bile acid metabolism in the steatorrhea of experimental blind loop. J. Clin. Inv., 1966, 45, 956-962
- 15) KOLDOVSKY (O.), SUNSHIVE (P.), KRETCHMER (N.) - Cellular migration of intestinal Epithelia in suckling and weaned rats. Nature, 1966, 212, 1389.
- 16) LACK (L.) - Some Recent observations concerning Ileal Bile salt transport in Bile salt metabolism, L. SCHIFF, J. CAREY, J.M. DIETSCHY. Charles C. Thomas Publisher. Springfield. Ill., 1969, p.25-40
- 17) LANDY (J.J.), GROWDON (J.H.) and SANDBERG (R.L.) - Use of large, Germfree animals in medical research. J. Am. M.A., 1961, 178, 1084-1087
- 18) LAROCHE (M.J.), PODEVIN (R.), HUSSON-COTTART (A.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) Exploration comparée de la fonction chromagogue chez le rat aseptique et chez le rat classique. Ann. Pharm. Fr., 1965, 23, n°3, 197.
- 19) LAROCHE (M.J.), COTTART (A.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) - Absorption de quelques substances chimiques par le tractus gastro-intestinal de rats aseptiques (germfree) et classiques (conventional). Ann. Pharm. Fr., 1964, 22, 333-338
- 20) LEPKOVSKY (S.), FURUTA (F.); OZONE (K.), KOIKET - The proteases, amylase and lipase in the pancreas and intestinal contents of germ-free and conventional Rat. - Brit. J. Nutr., 1966, 20, 257
- 21) LESHER (S.), WALBURG (H.E.), SACHER (G.A.) - Generation cycle in the duodenal crypt cells of germ-free and conventional mice. Nature, 1964, 202, 884.
- 22) LEVENSON (S.M.), KAN (D.), LEV (M.), DOFT (M.) - Influence of microorganisms on mammalian metabolism and nutrition with specific reference to oxygen consumption, carbon dioxide production and colonic temperature in Advances in Germfree Research and Gnotobiology Symposium. Nagoya and INUYAMA, Japan 1967, MIKAKAWA (M.) and LUCKEY (T.D.), edit., C.A.C. Press Cleveland Ohio U.S.A. p.71-79
- 23) LEVENSON (S.M.), TENNANT (B.) - Some metabolic and nutritional studies with germfree animals. Fed. Proc. Fedn. Am. Soc. exp. Biol., 1963, 22, 109-119
- 24) LINDSTEDT (G.), LINDSTEDT (S.) et GUSTAFSSON (B.E.) - Mucus in intestinal contents of germfree rats. - J. Exp. Med., 1965, 121, 201-213
- 25) LOESCHE (W.J.) - Effect of bacterial contamination on cecal size and cecal contents of gnotobiotic rodents. J. Bacteriol., 1969, 99, 520-526
- 6 ) LOESCHE (W.J.) - Protein and carbohydrate composition of cecal contents of gnotobiotic rats and mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1968, 128







- 127) LUCKEY (T.D.), WAGNER (M.), GORDON (H.A.) REYNIERS (J.A.) - Rearing germfree turkeys. Lobund Reports N°3, University Notre-Dame Press, Notre-Dame Indiana., 1960, p. 176-182
- 128) MARCUS (C.S.) and LENGEMANN (F.W.) - Use of radiomyttrium to study food movement in the small intestine of the rat. J. Nutr., 1962, 76, 179-182.
- 129) MIDVEDT (T.) and NORMAN (A.) - Parameters in 7  $\alpha$ -dehydroxylation of bile acids by anaerobic Lactobacilli. Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 1968, 72, 313-329
- 130) MIDVEDT (T.) and NORMAN (A.) - Anaerobic bile acid transforming micfoorganisms in rat intestinal content. Acta Path. et Microbiol. Scandinav., 1968, 72, 337-344
- 131) MIDTVEDT (T.), NORMAN (A.), NYGAARD (K.) - Bile acid transforming microorga-  
nisms in rats with an intestinal blind segment. Acta Path. Micro-  
biol., Scand., 1969, 77, 162-166
- 132) MILLER (E.R.), ULLREY (D.E.), ZUTANT (C.L.), BATTZER (B.V.), SCHMIDT (D.A.),  
HOEFER (J.A.), LUECHE (R.) - Calcium requirement of the baby pig., J. Nutr.,  
1962, 77, 7-17.
- 133) MITROPOULOS (K.A.) and MYANT (N.B.) - The formation of lithocholic and, cheno-  
deoxycholic acid and alpha and beta-muricholic acids from choles-  
terol incubated with rat lever mitochondria.- Biochem. J., 1967  
103, 472.
- 134) NORMAN (A.) and SJORVALL (J.) - On the transformation and enterohepatic circula-  
tion of cholic acid in the rat . Bile acids and steroids.,  
J. Biol., Chem., 1958, 233, 872-885
- 135) NORMAN (A.) and WIDSTROM (A.) - Hydrolysis of conjugated bile acids by extra-  
cellular enzymes present in rat intestinal contents. Proc. Soc.  
Expl. Biol. Med., 1964, 117, 442
- 136) NYGAARD (K.) - Changes in the intestinal flora after resections and bypass-  
operations on the small intestine in rats. The effect of different  
types of anastomosis. Acta chir. scand., 1967, 133, 569-583
- 137) PALMER (R.H.) - The enzymatic assay of bile acids and related 3  $\alpha$ -hydroxy -  
steroids; its application to serum and other biological fluids.  
in Methods in Enzymology, 1970, XV, 280-288
- 138) PALMER (R.H.) - Toxic effects of lithocholic acid and related 5 beta-H steroids  
in Bile Salts Metabolism, edited by SCHIFF (L.), CAREY (J.B. Jr),  
DIETSCHY (J.M.) Charles C. THOMAS Springfield (Ill.) U.S.A., 19  
p. 184-204
- 139) PANISH (J.F.) - Experimental blind loop steatorrhea, Gastroenterology, 1963,  
45, 394-399.
- 140) PASTEUR (L.) - Observations relatives à la note précédente de M. Duclaux.,  
C.R. Acad. Sci., 1885, 100, 68
- 141) PHILLIPPS (A.W.), and NEWCOMBE (H.R.) - Absorption of amino acids in germfree  
and conventional mice. Bacteriological Proceedings, 1965, p. 64



- 142) PLEASANTS (J.R.) - Rearing germfree cesarean-born rats, mice, and rabbits through weaning. Ann. N.Y. Acad., Sci., 1959, 78, 116-126
- 143) PLEASANTS (J.R.), REDDY (B.S.) and WOSTMANN (B.S.) - Qualitative adequacy of a chemically defined liquid diet for reproducing germfree mice The Journal of Nutrition, 1970, 100, 498-508.
- 144) PORTER (J.R.), RETTGER (L.F.) - Influence of diet on distribution of bacteria in the stomach, small intestine and caecum of the white rat. J. inf. Dis., 1940, 66, 104
- 145) QUEVAUVILLIER (A.), LAROCHE (M.J.), COTTARD (A.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) - Exploration comparée de l'activité chromatographique du foie chez le rat aseptique (germ free) et classique (conventional). Ann. Pharm. franç., 1965, 23, 197-202
- 146) RAIBAUD (P.), DICKINSON (A.B.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) et MOCQUOT (G.) - La microflore du tube digestif du rat. I - Techniques d'étude et milieux de culture proposés. Ann. Inst. Pasteur, 1966, 110 568-590
- 147) RAIBAUD (P.), DICKINSON (A.B.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) et MOCQUOT (G.) - La microflore du tube digestif du rat. II - Dénombrement de différents genres microbiens dans l'estomac et l'intestin des rats conventionnels. Variations quantitatives individuelles et en fonction de l'âge. Ann. Inst. Pasteur, 1966, 110, 861-876
- 148) RAIBAUD (P.), DICKINSON (A.B.), SACQUET (E.), CHARLIER (H.) et MOCQUOT (G.) - La microflore du tube digestif du rat IV - Implantation contrôlée chez le rat gnotobiotique de différents genres microbiens isolés du rat conventionnel. Ann. Inst. Pasteur, 1966, 111 193-210.
- 149) RANKEN (R.), WILSON (R.) and BEALMEAR (P.) - The reduction in the life span of the intestinal mucosal cells of germ-free mice by cholic acid, Symposium on the germ free animal as a tool in research. Leuven 14-20 Sept., 1969, p. 39-40.
- 150) RATLIFF (R.L.), MATSHINER (J.T.), DOISY (E.A.); HSIA (S.L.), THAYER (S.A.), ELLIOTT (W.A.) and DOISY (E.A.) - Bile acids XII. A new metabolite of deoxycholic acid. J. Biol. Chem. 1959, 234, 3133
- 151) REDDY (B.S.), PLEASANTS (J.R.), WOSTMANN (B.S.) - Pancreatic enzymes in germ-free and conventional rats fed chemically, water soluble diet free from natural substrates. J. Nutr., 1969, 97, 327-334.
- 152) REDDY (B.S.) and WOSTMANN (B.S.) - Intestinal disaccharidase activities in the growing germ free rats.- Archives of Biochemistry and Biophysics 1966, 113, 609-616
- 153) REDDY (B.S.), PLEASANTS (J.R.), WOSTMANN (B.S.) - Effect of intestinal microflora on calcium, phosphorus and magnesium metabolism in rats. J. of Nutr., 1969, 99, 73
- 154) REYNIERS (J.A.), SACKSTEDER (M.R.) - Raising japanese quails under germfree and conventional conditions and their use in cancer research. J. Nation Cancer Institute (U.S.A), 1960, 24, 1405-1416





- 55) REYNIERS (J.A.), TREXLER (P.C.), ERWIN (R.F.) - Rearing germ-free albino rats Lobund Report, 1946, 1, 1-84
- 56) REYNIERS (J.A.), TREXLER (P.C.), ERWIN (R.F.), WAGNER (M.), LUCKEY (T.P.), GORDON (H.A.) - A complete Life-cycle in "germ-free" Bantam chicken Nature 1949, 163, 67-68
- 57) ROCQUELIN (G.) - L'huile de colza riche en acide érucique et l'huile de colza sans acide érucique. II. Utilisation digestive comparée chez le rat. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 2, 413-426. 1969.
- 58) ROSENBERG (I.H.) - Influence of intestinal bacteria on bile acid metabolism and fat absorption. Contribution of studies of blind loop syndrome. Amer. J. clin. Nutr., 1969, 22, 284-291.
- 59) ROHOVSKY (M.W.), GRIESEMER (R.A.) - The germfree cat. Lab. anim. Care, 1966, 16, 52-59.
- 60) SACQUET (E.) - Les infections inapparentes des animaux de laboratoire in . The problems of laboratory animal disease., edited by R.J.C. HARRIS., Academic Press, 1962, p. 57-71.
- 61) SACQUET (E.) - Equipment Design and management. General technique of maintainin Germfree Animals., in the Germfree Animal in Research., M.E. COATES, H.A. GORDON, B.S. WOSTMANN. - Academic Press., 1968, p. 1-22.
- 62) SACQUET (E.), CHARLIER (H.), DICKINSON (A.B.), EVRARD (E.), EYSEN (H.)- Etio- logie bactérienne de la stéatorrhée observée chez le rat por- teur d'un cul-de-sac intestinal. C.R. Acad. Sciences Paris, 1966, 262, 786-789.
- 63) SACQUET (E.), GARNIER (H.), RAIBAUD (P.), EYSEN (H.) - Etiologie bactérienne de la stéatorrhée observée chez le rat porteur d'un cul de sac intestinal. Déconjugaison de l'acide taurocholique. C.R. Acad. Sci., Paris., 1968, Série D, 267, 2238-2240
- 64) SACQUET (E.), GARNIER (H.) et RAIBAUD (P.) - Etude de la vitesse du transit gastro-intestinal des spores d'une souche thermophile stricte de Bacillus subtilis chez le rat "holoxénique", le rat axénique le rat axénique caeectomisé. C.R. Soc. Biol., 1970, 164, 352
- 65) SACQUET (E.), GARNIER (H.), et IONESCO (D.) - Composition de la bile et du con- tenu de l'intestin grêle du rat "axénique" en acides biliaires. C.R. Acad. Sc., 1970, 271, 1809-1812
- 66) SACQUET (E.), GUENET (J.L.), GARNIER (H.) et MESLIN (J.C.) - Influence de deux modifications chirurgicales de l'intestin grêle sur le renou- vellement des entérocytes du rat : la formation d'une anse aveu- gle chez le rat "holoxénique", l'ablation du caecum chez le rat axénique. C.R. Acad. Sc., 1971, 272, 841-844
- 67) SACQUET (E.), RAIBAUD (P.), GARNIER (H.) - Etude comparée de la microflore de l'estomac, de l'intestin grêle et du caecum du rat "holoxénique" et de ses modifications à la suite de diverses modifications chirurgicales : anse aveugle jéjunale, déviations biliaires. Ann. Inst. Pasteur 1971, 120, 501-524





- 68) SAVAGE (D.C.) and DUBOS (R.J.) - Localization of indigenous yeast in the murine stomach. J. Bac., 1967, 94, 1811-1816
- 69) SAVAGE (D.C.), DUBOS (R.) and SCHAEDELER (R.W.) - The gastro-intestinal epithelium and its autochthonous bacterial flora. J. exp. Med., 1968, 127, 67-76
- 70) SAVARY (P.), CONSTANTIN (M.J.) - Sur la résorption intestinale des chaînes éru-  
ciques et leur incorporation dans les chylomicrons lymphatiques  
du rat. Biochim. Biophys. Acta, 1966, 125, 118-128
- 71) SCHANKER (L.S.), TOCCO (P.J.), BRODIE (B.B.) and HOGGEN (C.A.M.) - Absorption  
of drugs from the rat small intestine. J. Pharmacol. Exper.  
Therap., 1958, 123, 81-88
- 72) SHIMADA (K.), BRICKNELL (K.S.) and FINEGOLD (S.M.) - Deconjugation of bile  
acids by intestinal bacteria : review of literature and addition-  
al studies. J. infect. Dis., 1969, 119, 273-281
- 73) SHIMADA (K.), SUTTER (V.L.), FINEGOLD (S.H.) - Effect of bile and desoxychoia-  
te on Gram-negative anaerobic bacteria. Applied. Microbiology,  
1970, 20, 737-741
- 74) SHINER (M.) - Effect of bile acids on the small intestinal mucosa in man and  
rats : a light and electron microscope study in Bile salt meta-  
bolism, edited by SCHIFF (L.), CAREY (J.B. Jr.) , DIETSCHY (J.M.)  
Charles C. THOMAS Springfield (Ill.) 1969, p.
- 75) SKELLY (J.B.), TREXLER (P.C.) and TANAMI (J.) - Effect of a Clostridium species  
upon cecal size of gnotobiotic mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.  
1962, 110, 455-458
- 76) SMALL (M.D.), CAVANAGH (R.L.), GOTTLIEB (L.), COLON (P.L.) and ZAMCHECK (N.) -  
The effect of aminopterin on the absorption of xylose from the  
rat small intestine. Amer. J. Dig. N.S., 1959, 4, 700-705
- 77) SMITH (H.W.) - Observations on the flora of the alimentary tract of animals  
and factors affecting its composition. J. Path. Bact., 1965, 89,  
95-122.
- 78) SMITH (C.K.), TREXLER (P.C.) - Nutrition and physiology of germfree ruminants.  
Abstr. 5 th Internation. Congr., Nutrit., Washington, D.C., 1960,  
p. 26.
- 79) STEMPFEL (R.S.) and SIDBURY (J.B.) - Studies with the hydroxysteroid dehydroge-  
nases I. A simplified method for the enzymatic estimation of 3  
and 17 hydroxysteroids. J. Clin. Endocr., 1964, 24, 367
- 80) STRANDBERG (K.), SEDWALL (G.), MIDVEDT (T.) and GUSTAFSSON (E.B.) - Effect some  
biologically active amines on the cecum wall of germfree rats.  
Proc. Soc. exper. Biol. Med., 1966, 121, 699-702
- 81) STRAUSS (E.W.), DONALDSON (R.M.), GARDNER (F.H.) - A relationship between in-  
testinal bacteria and the absorption of vitamin B 12 in rats  
with diverticula of the small bowel. Lancet., 11, 1961, 736-738
- 82) SUBBIAH (M.T.) and KUKSIS (A.) - Alkaline solvent systems for thin-layer chro-  
matography of bile acids. Jl. of Lipid Research, 1968, 9, 288
- 83) SUBBIAH (M.T.), KUKSIS (A.), MOOKERJEA (S.) - Secretion of bile salts by intact  
and isolated rat livers. Can. J. Biochem., 1969, 47, 847-854
- 84) SUMMERS (R.W.) and KENT (T.M.) - Effects of altered propulsion on rat small



- 185) TABAQCHALI (S.) and BOOTH (C.C.) - Relationship of the intestinal flora to absorption. Br. med. Bull., 1967, 23, 285-290
- 186) TABAQCHALI (S.); HATZIOANNOU (J.), GORBACH (S.) - Relationship of bile salt deconjugation to steatorrhea in the stagnant loop syndrome. in Bile salt metabolism, edited by SCHIFF (L.), CAREY (J.B. Jr), DIETSCHY (J.M.), Charles C. THOMAS Springfield (Ill.), 1969, p. 76-87
- 187) TEAH (B.A.) - Germfree animal production at Lobund Institute. Proc. Second. Symposium on Gnotobiotic Technology, 1959, p. 25-28. Univ. Notre-Dame Press., Notre-Dame Indiana.
- 188) TENNANT (B.), REINA-GUERRA (M.), HARROLD (D.), GOLDMAN (M.), - Influence of microorganisms on intestinal absorption : oleic acid 131. I. Absorption by germ-free and conventionalized rats. J. Nutr., 1969, 97, 67-69.
- 189) TENNANT (B.), REINA-GUERRA (M.) and HARROLD (D.) - Intestinal absorption of D-xylose by germ-free rats. Experientia, 1970, 26, 1215-1216
- 190) THIEULIN (C.) - Les divers facteurs influant sur l'utilisation digestive des matières grasses. Ann. Nutr. Alim., 1968, 22, 245-258
- 191) THOMAS (P.J.), HSIA (S.L.), MATSCHINER (J.T.), DOIZY (E.A. Jr.), ELLIOT (W.H.) THAYER (S.A.), and DOIZY (E.A.) - Metabolism of lithocholic acid 24-C<sup>14</sup> in the rat. J. Biol. Chem., 1964, 239, 102
- 192) THRASHER (J.D.) - Comparison of the cell cycle and cell migration in the intestinal epithelium of suckling and adult mice. Experientia, 1967, 23, 1050.
- 193) TOON (R.W.) & WANGENSTEEN (O.W.) - Anemia associated with blind loop intestinal segments and the prevention with aureomycin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 75, 762-765.
- 194) TOULLEC (R.), FLANZY (J.), RIGAUD (J.) - Dosage des lipides des fèces. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys, 1968, 8, 281-289.
- 195) TREXLER (P.C.) - The use of plastics in the design of isolator systems. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1959, 78, 29-36
- 196) VAN DE KAMER (H.V.), TEN BOKKEL HUININCK (H.), WEYERS (H.A.) - Rapid method for the determination of fat in feces. J. Biol. Chemistry, 1949, 177, 347.
- 197) WATSON (G.M.), CAMERON (D.G.) WITTS (L.J.) - Experimental macrocytic anaemia in the rat. Lancet, 1948, 404-408.
- 198) WATSON (G.M.) and WITTS (L.J.) - Intestinal macrocytic anaemia. Brit. med. J. 1952, 1, 13-17
- 199) WEBLING (D.D.A.), HOLDSWORTH (E.S.) - Bile salts and calcium absorption. Biochem. J., 1966, 100, 652
- 200) WIECH (N.L.) - The influence of the intestinal microflora on the absorption and metabolism of dietary triglycerides in the rat. 1966, Th. Ph. D., University Microfilms Inc, Ann Arbor, Michigan.
- 201) WILSON (T.H.) - Intestinal absorption . W.B. Saunders Co, Philadelphia, London







- 202) WILSON (J.D.) BENTLEY (W.H.), and CROWLEY (G.T.) - Regulation of bile acid formation in intact animals in Bile salt metabolism, edited by SCHIFF (L.), CAREY (J.B. Jr.), DIETSCHY (J.H.) Charles C. THOMAS Springfield (Ill.) U.S.A., 1969, p.141-148
- 203) WILSON (T.H.) and LANDAU (B.R.) - Specificity of sugar transport by the intestine of the hamster. Amer. J. Physiol., 1960, 198, 99-102.
- 204) WINDMUELLER (H.G.), Mc DANIEL (E.G.), and SPAETH (A.) - Orotic acid-induced fatty liver. Metabolic studies in conventional and germ-free rats. Arch. Biochem., 1965, 109, 13
- 205) WISEMAN (R.F.) and COLE (C.) - Transient cecal reduction in gnotobiotic animals: Advances in Germfree research and Gnotobiology edit. by M. Miyakawa and T.D. Luckey CR.C. Press Cleveland (Ohio) U.S.A., 1967, 162-165
- 206) WOLFE (L.), GRIESEMER (R.), ROHOVSKY (M.) - Germfree cynomolgus monkeys. Lab. Animal care, 1966, 16, 364-368
- 207) WOSTMANN (B.S.) - Communication privée.
- 208) WOSTMANN (B.S.) and BRUCKNER-KARDOSS (E.) - Development of cecal distention in germ-free baby rats. Amer. J. Physiol., 1959, 197, 1345
- 209) WOSTMANN (B.S.) and BRUCKNER-KARDOSS (E.) - Oxidation-reduction potentials in cecal contents of germ free and conventional rats. Proc Soc. exp. Biol. Med., 1966, 121, 1111-1114 .
- 210) WOSTMANN (B.S.) BRUCKNER-KARDOSS (E.) & KNIGHT (P.L.) - Cecal enlargement, cardiac output and O<sub>2</sub> Consumption in germfree rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1968, 128, 137-141.
- 211) WOSTMANN, (B.S.) KNIGHT (P.L.), KAN (P.F.) - Metabolism and function of thiamine and naphthoquinones in germ free and conventional rats., Fed. Proc., 1963, 22, 120-124.
- 212) WOSTMANN (B.S.), WIECH (N.L.), KUNG (E.) - Catabolism and elimination of cholesterol in germ free rats. Jl. Lipid. Res., 1966, 7, 77.
- 213) YACOWITZ (H.), FLEISHMAN (A.I.), AMSDEN (R.T.), BIERENBAUM (M.L.) - Effects of dietary calcium upon lipid metabolism in rats fed saturated or unsaturated fat. J. Nutr., 1967, 92, 389-392.
- 214) YOSHIDA (T.), PLEASANTS (J.R.), REDDY (B.S.) - Efficiency of digestion in germ-free and conventional rabbits. Br. J. Nutr., 1968, 22 723-737.



# FLORE MICROBIENNE DU TRACTUS

## DIGESTIF ET NUTRITION CHEZ RATTUS

### NORVEGICUS

#### I N T R O D U C T I O N

|                                                                                                                             | <u>Pages</u> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| ) - Les animaux supérieurs sont-ils capables de vivre en l'absence de flore microbienne de leurs cavités digestives ? ..... | 1-2          |
| ) - Quelle influence exerce sur l'hôte la flore microbienne qui lui est associée .....                                      | 2-4          |
| ) - Plan de cette thèse .....                                                                                               | 4            |

#### C H A P I T R E    I

##### MICROFLORE DU TUBE DIGESTIF DU RAT

|                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <u>I N T R O D U C T I O N</u> .....                                                      | 5   |
| - Intérêt de l'étude de la flore microbienne du tractus digestif du rat holoxénique ..... | 5-6 |
| - Ensemencement du tractus digestif du sujet axénique par les bactéries .....             | 6   |
| - Plan .....                                                                              | 6-7 |
| <u>M A T E R I E L   E T   M E T H O D E S</u>                                            |     |
| - Animaux .....                                                                           | 7   |
| - Techniques chirurgicales .....                                                          | 7   |
| - Techniques d'analyse microbiologique .....                                              | 7-8 |
| - Techniques d'ensemencement des rats axéniques par les cultures microbiennes .....       | 8   |



ETUDE COMPAREE DE LA MICROFLORE DE L'ESTOMAC, de L'INTESTIN GRELE ET  
DU CAECUM DU RAT HOLOXENIQUE ET DE SES MODIFICATIONS A LA SUITE DE LA  
FORMATION D'UNE ANSE AVEUGLE JEJUNALE

|                                                                                                                                     |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| I - Répartition des microorganismes dans l'estomac,<br>l'intestin grêle et le caecum chez les rats holoxéniques opérés ou non ..... | 9     |
| 1 - Nombre total de bactéries cultivables .....                                                                                     | 9     |
| 2 - Levures .....                                                                                                                   | 9-10  |
| 3 - Escherichia coli .....                                                                                                          | 10    |
| 4 - Actinobacillus .....                                                                                                            | 10    |
| 5 - Lactobacillus .....                                                                                                             | 10-11 |
| 6 - Staphylocoques anaérobies facultatifs .....                                                                                     | 11    |
| 7 - Microcoques et staphylocoques .....                                                                                             | 11    |
| 8 - Streptocoques anaérobies stricts .....                                                                                          | 12    |
| 9 - Anaérobies stricts sporulés .....                                                                                               | 12    |
| 10 - Anaérobies stricts non sporulés autres que les streptocoques .....                                                             | 12    |
| II - Composition comparée de la microflore de l'estomac, de l'intestin grêle et du caecum du rat holoxénique non opéré .....        | 13-14 |
| III - Modifications de la microflore du tube digestif du rat holoxénique à la suite de la formation d'une anse aveugle .....        | 14-15 |

ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES DIVERSES SOUCHES MICROBIENNES ENSEMENCEES  
DANS LE TRACTUS DIGESTIF DU RAT AXENIQUE

|                                                                                                                                      |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| I - Influence du choix de l'aliment et du mode d'administration des cultures bactériennes dans le suc-<br>cès des implantations..... | 15-16 |
| II - Influence de l'association de différentes sou-<br>ches sur leur développement dans le tractus di-<br>gestif .....               | 16-18 |

|                         |         |
|-------------------------|---------|
| <u>DISCUSSION</u> ..... | 18 à 22 |
| <u>CONCLUSION</u> ..... | 22-23   |





## C H A P I T R E   I I

### ACTION DE LA MICROFLORE GASTRO-INTESTINALE SUR LA PHYSIOLOGIE

#### DE L'APPAREIL DIGESTIF ET LE METABOLISME DE L'HOTE

|                                                                                                                                              |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <u>INTRODUCTION</u> .....                                                                                                                    | 24    |
| <u>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u>                                                                                                                 |       |
| - Hypertrophie du caecum du rat axénique.....                                                                                                | 25-26 |
| - Autres modifications morphologiques et physiologiques du tractus gastro-intestinal .....                                                   | 26-27 |
| - Modifications de la composition corporelle et du métabolisme .....                                                                         | 27-28 |
| - Conclusion de l'étude bibliographique et définition du travail expérimental .....                                                          | 28-29 |
| <u>MATERIEL ET METHODES</u> .....                                                                                                            | 29    |
| - Animaux d'expérience et régimes alimentaires ..                                                                                            | 29    |
| - Etude de l'hypertrophie caecale .....                                                                                                      | 29-30 |
| - Mesure de la vitesse de renouvellement des entérocytes .....                                                                               | 30-31 |
| - Mesure de l'absorption intestinale .....                                                                                                   | 31    |
| - Mesure de la vitesse du transit gastro-intestinal .....                                                                                    | 31-32 |
| - Mesure du métabolisme de base, de la fonction thyroïdienne, de l'iodémie .....                                                             | 32    |
| - Mesure de l'élimination de la bromosulfonephtaléine .....                                                                                  | 32-33 |
| - Mode d'expression des résultats .....                                                                                                      | 33    |
| <u>ACTION DE LA FLORE MICROBIENNE AU NIVEAU DU TRACTUS DIGESTIF</u> .....                                                                    | 33    |
| <u>HYPERTROPHIE DU CÆCUM DU RAT AXENIQUE</u> .....                                                                                           | 33    |
| - Relation entre le poids du caecum et le poids vif.....                                                                                     | 33    |
| - Réduction du caecum des rats axéniques à l'aide de souches de bacteries isolées du caecum des rats holoxéniques .....                      | 34-37 |
| - Modifications du contenu caecal sous l'action de la flore microbienne. Comparaison des rats axéniques, holoxéniques et gnotoxéniques ..... | 37    |



|                                                                                                                                                                             |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1 - Teneur en eau du caecum .....                                                                                                                                           | 37    |
| 2 - Concentration en minéraux et teneur en<br>hexosamines du caecum.....                                                                                                    | 38    |
| - Conclusions .....                                                                                                                                                         | 39    |
| ETUDE DE LA VITESSE DE RENOUVELLEMENT DES ENTEROCYTES .....                                                                                                                 | 40    |
| - Protocole expérimental .....                                                                                                                                              | 40    |
| - Résultats : 1° - Chez les rats axéniques, la<br>vitesse de renouvellement de l'épithélium intes-<br>tinal est plus faible que chez les rats holoxé-<br>niques .....       | 40-41 |
| 2° - Chez les rats axéniques, la<br>caecectomie détermine une altération de l'acti-<br>vité mitotique au niveau des cryptes de Lieber-<br>kühn .....                        | 42    |
| 3° - Chez les rats holoxéniques, la<br>présence de l'anse aveugle s'accompagne d'une ac-<br>célération de la vitesse de renouvellement de l'<br>épithélium intestinal ..... | 42-43 |
| - Conclusions .....                                                                                                                                                         | 43    |
| ABSORPTION INTESTINALE .....                                                                                                                                                | 43    |
| - But de cette étude .....                                                                                                                                                  | 43    |
| - Protocole expérimental .....                                                                                                                                              | 44    |
| - Résultats .....                                                                                                                                                           | 44    |
| - Conclusions .....                                                                                                                                                         | 45    |
| VITESSE DU TRANSIT GASTRO-INTESTINAL CHEZ LE RAT HOLOXENIQUE, LE<br>RAT AXENIQUE ET LE RAT AXENIQUE CAECECTOMISE .....                                                      | 45    |
| - Buts de cette étude .....                                                                                                                                                 | 45    |
| - Protocole expérimental .....                                                                                                                                              | 45    |
| - Résultats .....                                                                                                                                                           | 45-47 |
| - Conclusions .....                                                                                                                                                         | 47    |
| <u>ACTION DE LA FLORE MICROBIENNE A DISTANCE DU TRACTUS DIGESTIF .....</u>                                                                                                  | 48    |
| MODIFICATION DE L'ACTIVITE HEPATIQUE - CLEARANCE DE LA BROMO-<br>SULFONEPHTHALEINE                                                                                          |       |
| - Buts de cette étude .....                                                                                                                                                 | 48    |
| - Protocole expérimental .....                                                                                                                                              | 48    |
| - Résultats .....                                                                                                                                                           | 49    |
| - Conclusions .....                                                                                                                                                         | 49    |





## METABOLISME DE BASE

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| - Buts de cette étude .....                      | 49 |
| - Protocole expérimental .....                   | 50 |
| - Résultats :                                    |    |
| Métabolisme de base.                             |    |
| Fixation de l'I <sup>131</sup> par la thyroïde.. | 50 |
| Iodémie .....                                    | 51 |
| - Conclusions .....                              | 51 |

## CROISSANCE PONDERALE

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| - Buts de cette étude .....    | 51 |
| - Protocole expérimental ..... | 52 |
| - Résultats .....              | 52 |
| - Conclusions .....            | 52 |

|                         |    |
|-------------------------|----|
| <u>DISCUSSION</u> ..... | 53 |
|-------------------------|----|

|                          |    |
|--------------------------|----|
| <u>CONCLUSIONS</u> ..... | 59 |
|--------------------------|----|

## C H A P I T R E     I I I

### FLORE INTESTINALE ET ABSORPTION APPARENTE DES LIPIDES ALIMENTAIRES

|                                                                                                                                                                      |       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <u>INTRODUCTION</u> .....                                                                                                                                            | 60    |
| - Influence de la flore microbienne sur la digestibilité des lipides alimentaires .....                                                                              | 60    |
| - Malabsorption des lipides alimentaires sous l'influence d'une prolifération anormale de la flore microbienne de l'intestin grêle. Syndrome de l'anse aveugle ..... | 61-63 |
| - Remarques concernant l'étude bibliographique ...                                                                                                                   | 63    |
| - Définition des recherches poursuivies .....                                                                                                                        | 63-64 |

### MATERIEL ET METHODES

|                                                                          |       |
|--------------------------------------------------------------------------|-------|
| Sujets d'expérience - Régimes alimentaires - Prélèvement des fecès ..... | 64    |
| Méthodes de mesure de la graisse fécale .....                            | 65-66 |
| Chromatographie des esters méthyliques des acides gras .....             | 66    |
| Méthodes d'analyses des acides biliaires.                                |       |
| I - Considérations générales .....                                       | 66-67 |



|                                                                                                                                                                                |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| II - Méthodes d'analyse .....                                                                                                                                                  | 67    |
| - Prélèvements .                                                                                                                                                               |       |
| - Mesure des acides taurocholique et cholique ...                                                                                                                              | 68    |
| - Intérêt de cette méthode .....                                                                                                                                               | 69    |
| - Analyse quantitative et qualitative des acides<br>biliaires autres que les acides taurocholique<br>et cholique.                                                              |       |
| 1) Acides biliaires totaux .....                                                                                                                                               | 69    |
| 2) Acides biliaires libres .....                                                                                                                                               | 71    |
| - Avantages et inconvénients de cette méthode ...                                                                                                                              | 72    |
| - Techniques et méthodes diverses .....                                                                                                                                        | 72    |
| <u>INFLUENCE DE LA FLORE MICROBIENNE SUR LA DIGESTIBILITE DES LIPIDES DANS<br/>LES CONDITIONS NORMALES : COMPARAISON ENTRE LE RAT AXENIQUE ET LE RAT<br/>HOLOXENIQUE</u> ..... | 72    |
| - Protocole expérimental .....                                                                                                                                                 | 73    |
| - Résultats .....                                                                                                                                                              | 73    |
| 1° - Utilisation globale des matières grasses .....                                                                                                                            | 73    |
| 2° - Utilisation digestive apparente des acides gras..                                                                                                                         | 73    |
| 3° - Forme d'excrétion fécale des matières grasses ...                                                                                                                         | 73    |
| - Conclusions .....                                                                                                                                                            | 75    |
| <u>INFLUENCE DE LA FLORE MICROBIENNE SUR L'ABSORPTION APPARENTE DES LIPIDES<br/>ALIMENTAIRES DANS DES CONDITIONS PATHOLOGIQUES : SYNDROME DE L'ANSE AVEU-<br/>GLE</u> .....    | 75    |
| REPRODUCTION DE LA MALABSORPTION DES LIPIDES CHEZ LE RAT HOLOXENI-<br>QUE .....                                                                                                | 76    |
| REPRODUCTION DE LA MALABSORPTION DES LIPIDES PAR ENSEMENCEMENT DU<br>RAT AXENIQUE AU MOYEN DE BACTERIES ISOLEES DU TRACTUS DIGESTIF DU<br>RAT HOLOXENIQUE .....                | 76    |
| ETUDE BACTERIOLOGIQUE - RAPPEL .....                                                                                                                                           | 76-77 |
| CONCLUSIONS .....                                                                                                                                                              | 77    |
| ETUDE DU MODE D'ACTION PAR LEQUEL LA FLORE MICROBIENNE DETERMINE<br>LA MALABSORPTION DES LIPIDES ALIMENTAIRES .....                                                            | 77    |
| <u>Acides gras et malabsorption des lipides alimentaires</u> .....                                                                                                             | 77    |











